



# 仿制药质量一致性评价的 体内体外相关性

中国药科大学 刘建平 陈昊

2015年11月



# 内 容

- 一、仿制药质量一致性评价的技术策略
- 二、人体生物等效性（BE）及案例分析
- 三、体外溶出行为评价及案例分析
- 四、体外溶出与BE的关联及案例分析
- 五、总结



# 一、仿制药质量一致性评价的技术策略

## □ 仿制药的定义：

“通用名药”（Generic drug）在我国亦称作已有国家标准药或仿制药，是相对于在专利保护期内的原研药的一类药品，其具体特征是：已失去化合物专利的保护，其他药品生产商都可注册生产，**需要证明和原研药临床上等效**，并且不能使用原研药的品牌名（brand-name）。

——摘自“中国通用名药发展研究报告”（2012年）



## □ 开发仿制药的意义：

- 投资少
- 周期短
- 见效快
- 药品消费的主流
- 良好的经济效益和社会效益



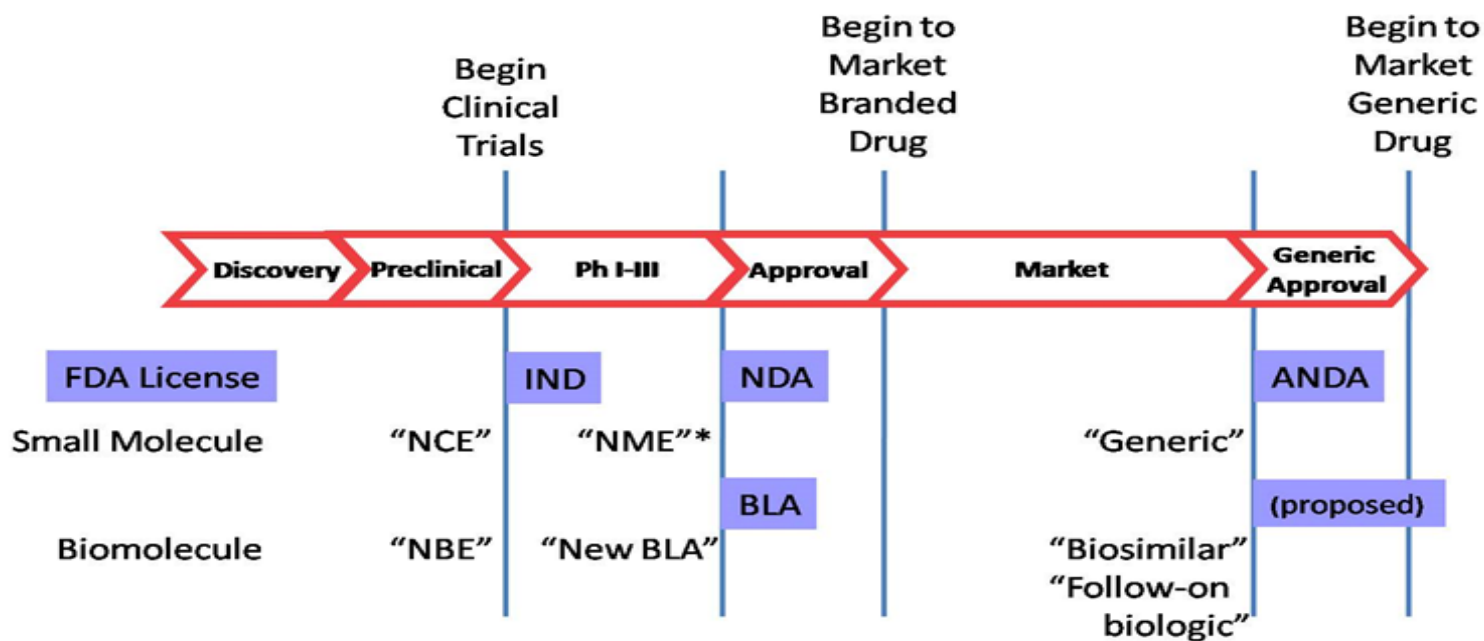
- 比如我国恒瑞药业生产的多西他赛注射液（艾素）价格仅是原研药（泰素帝）的1/4。

- 质量过硬、价格易于接受的仿制药成为众多患者的首选。





## 原研药与仿制药的开发历程

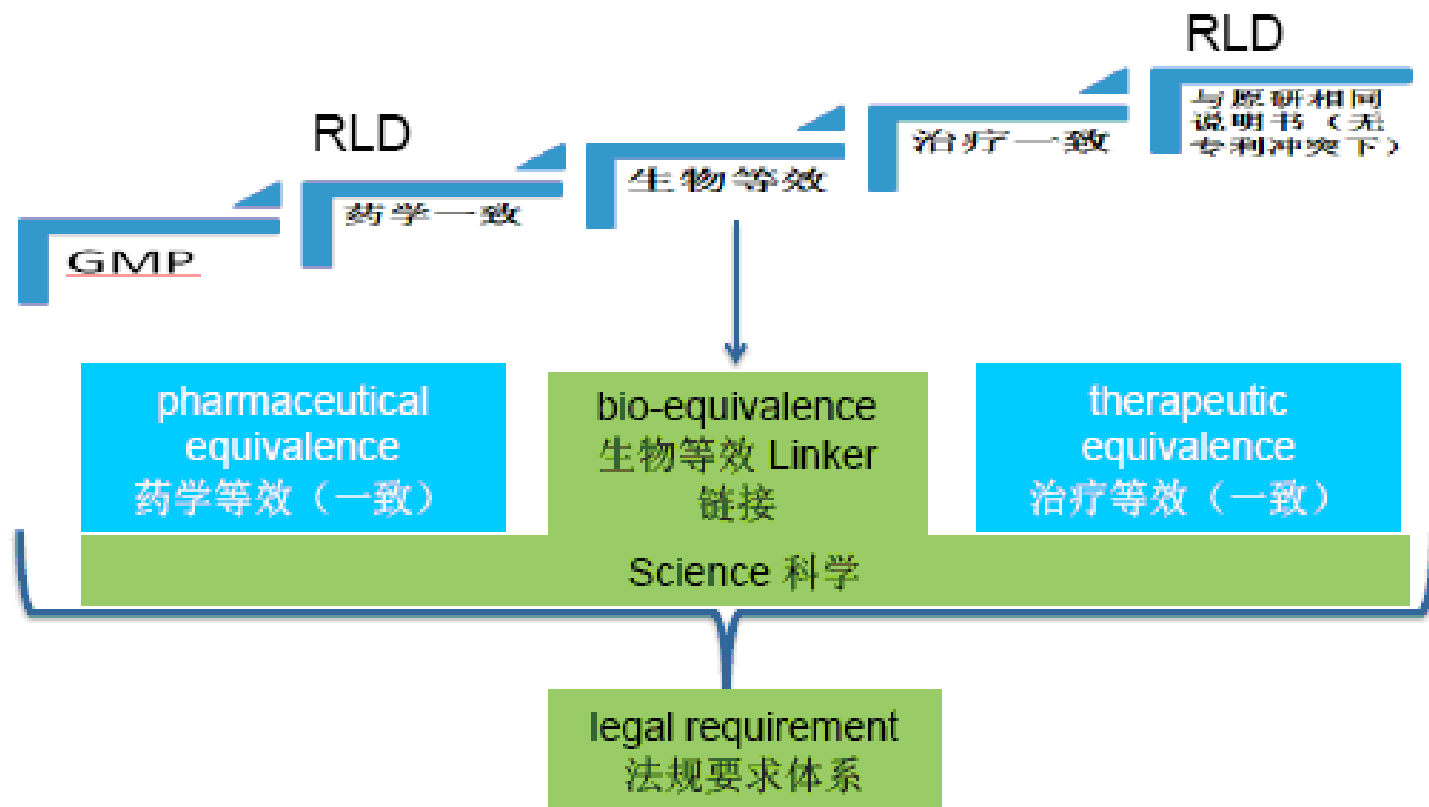


- 原研药的开发经历了发现、临床前、申报临床（IND）、临床123期、新药申请报生产（NDA）到上市的过程；仿制药是待原研药上市进行的简略新药申请（ANDA）



原研药（NDA）是基于系统的基础和临床研究，对产品的安全性和有效性经历了临床验证过程，是仿制药的质量标杆。

- ▶ 仿制药（ANDA）需要保证与原研药的药学一致和体内一致，保障同样严格的质量体系。



- 一致性评价技术策略：在保证GMP体系前提下，通过药学等效达到生物等效，最终达到治疗等效，得到医生和患者的认可。



## 二、体内生物等效性评价

### □ 生物等效性 ( BE )

- 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，其活性成分吸收的程度和速度的差异无统计学意义。
- 通常意义的BE研究 是指采用生物利用度研究方法，以药动学参数为终点指标，根据预先确定的等效标准进行的比较研究



## □ 人体生物等效性是临床效应的替代指标

- 绝大多数药物口服给药后 经血液循环转运到达起效部位
- 相似的血药浓度，可以保证相似的疗效
- 国际监管部门均将BE试验作为仿制药物上市批准的依据

□ 由于伦理、经费、时间等因素的限制，无法对每批药品进行BE试验



由于伦理、经费、时间等因素的限制,美国FDA和欧盟EMA在2000年陆续以BCS作为BE豁免的依据,2015年FDA对BE豁免指南做了进一步修订

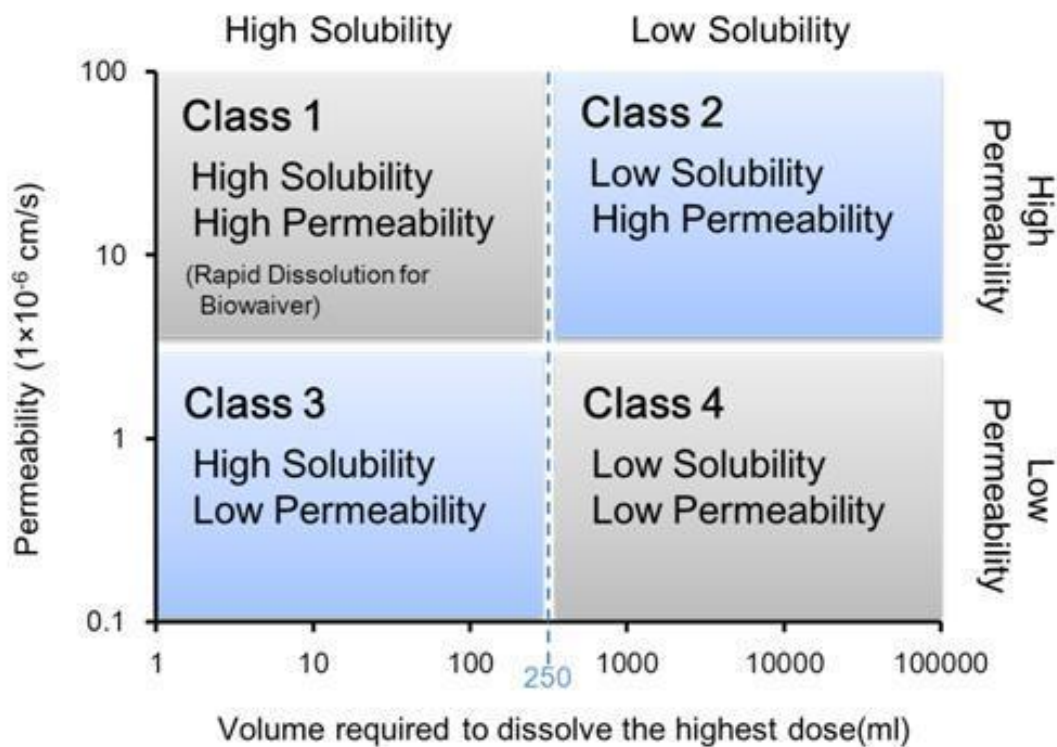
## □ 2015年5月5日 FDA发布新修订的速释制剂BE豁免指南草案

- **背景**：药物具有高溶解性，将迅速并完全溶解，进入体内的吸收速率仅依赖于药物的渗透性。且剂型对溶解度没有影响，这些药品的效果将是一样的：即具有相同的血药浓度曲线。
- BCS 1类和3类药物。
- 不同管理局对高溶解性和高渗透性的定义稍有差异，但总体基本一致



表 1 不同管理当局对于高溶解性和高渗透性的定义

不同管理当局	高溶解性	高渗透性
FDA	37 °C条件下,药物单次最高剂量可溶解于 250 mL pH 1~7.5的介质中	≥90%的药物在小肠得以吸收
EMA	37 °C条件下,药物单次最高剂量可溶解于 250 mL pH 1~8的介质中 (通常为 pH 1.0, 4.6, 6.8)	线性及完全的吸收
WHO	37 °C条件下,药物单次最高剂量可溶解于 250 mL pH 1.2~6.8的介质中	≥85%的药物在小肠得以吸收





## 生物等效性豁免的条件：

### 速释制剂的溶出：

- pH1.0、4.5和6.8介质中，
- USP第一法（篮法）100rpm，USP第二法（桨法）50rpm或75rpm，在500ml介质中，30分钟溶出限度不少于85%。

### 药物活性成分为BCS 1或3类药物：

- BCS 1类要求：药品不含有任何影响药物吸收速率或吸收程度的辅料；
- BCS 3类要求：试验制剂与参比制剂的辅料性质相同、含量相似。（由于渗透性是限制步骤，因此要求与参比制剂的辅料性质相同、含量相似）



# 案例分析

- 对于BCS1类药物，体外溶出（50rpm），15min > 85%，符合一致性要求，达到BE豁免条件
- 体外满足豁免条件的制剂，体内是否一定能达到生物等效？
  - 案例1：酒石酸吡唑坦片



# 案例1：酒石酸吡唑坦片



## □原研品——思诺思

- ✓ 治疗严重睡眠障碍
- ✓ 常用剂量：10 mg/片/日
- ✓ pKa 为 5.65
- ✓ **BCS 1类药物**
- ✓ 药物的半衰期 ( 2.4h )

## ✓溶解度

介质	溶解度mg/mL
pH1.2	48.24
pH4.5	23.23
pH6.8	6.60

溶解度较高，随着pH增加溶解度下降



## 两个仿制制剂与原研制剂的溶出曲线比较

- 原研及2个仿制制剂在50rpm桨法pH1.2、4.5、6.0、6.5、6.8介质中，15min均大于85%，达到BE豁免条件

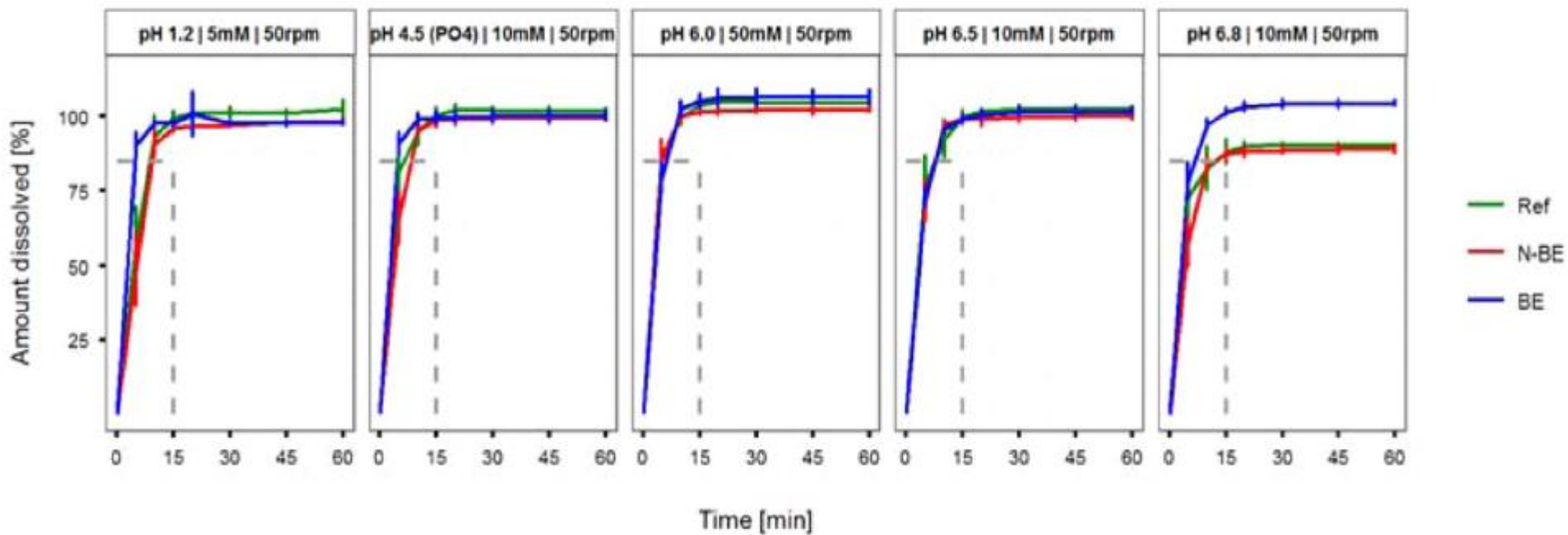


Figure 5. Dissolution profiles of three zolpidem formulations (reference product, nonbioequivalent formulation (N-BE), and bioequivalent formulation (BE)) in the paddle apparatus at 50 rpm in buffered media at pH 2.0, 6.0, and 6.5 (upper); and 1.2, 4.5, 6.0, 6.5, and 6.8 (bottom).



## 两个仿制制剂与原研制剂的生物等效性结果

Table 1. *In Vivo* Bioequivalence Results of the Test Formulations<sup>a</sup>

pharmacokinetic parameter	point estimate and 90% confidence interval (%)	
	non-BE formulation (N-BE)	BE formulation (BE)
$C_{\max}$	86.33 (76.29–97.70)	90.93 (81.83–101.05)
$AUC_{0-\infty}$	94.84 (85.90–104.71)	92.11 (83.55–101.54)

<sup>a</sup> $n = 36$  patients.

□  $C_{\max}$ 生物等效标准80%-125%

□ 结果表明，一个仿制制剂（N-BE）的 $C_{\max}$ 与原研不等效！





- 对大多药品来说，循环系统的药物暴露差别在20%以内，将不会对临床治疗效果产生显著影响；
- FDA设定了试验制剂和参比制剂的药代动力学参数（ $AUC$ 和 $C_{max}$ ）“差异应小于20%”作为等效性判定标准；
- 通过双单侧 $t$ 检验及（ $1 - 2\alpha\%$ ）置信区间法，得到两种制剂 $AUC$ 或 $C_{max}$ 几何均值比值的90% 置信区间（Confidence Interval, CI），
- 对于非窄治疗窗的药物，此90% CI必须落在80.00% ~ 125.00%范围内；
- 且此置信区间必须保留两位有效数字，不得四舍五入，
- N-BE的生物等效性不在上述范围内，则判定为生物不等效。



## □ 原因分析

### 1. 是否辅料影响吸收？

	片芯材料	包衣材料
原研制剂	乳糖、微晶纤维素、羟丙甲基纤维素、羧甲基淀粉钠和硬脂酸镁	羟丙甲基纤维素、二氧化钛和聚乙二醇400
仿制 ( BE )	乳糖、微晶纤维素、 <b>交联羧甲基纤维素</b> 、 <b>二氧化硅</b> 和硬脂酸镁	羟丙甲基纤维素、二氧化钛、聚乙二醇和 <b>吐温80</b>
仿制 ( N-BE )	乳糖、微晶纤维素、羟丙甲基纤维素、羧甲基淀粉钠和硬脂酸镁	羟丙甲基纤维素、二氧化钛、 <b>聚乙二醇6000</b> 和 <b>滑石粉</b>

□ 从表中看出，处方组成存在差异，进一步考察辅料对膜通透性的影响。



## 原因分析

- 考察辅料对膜通透性的影响

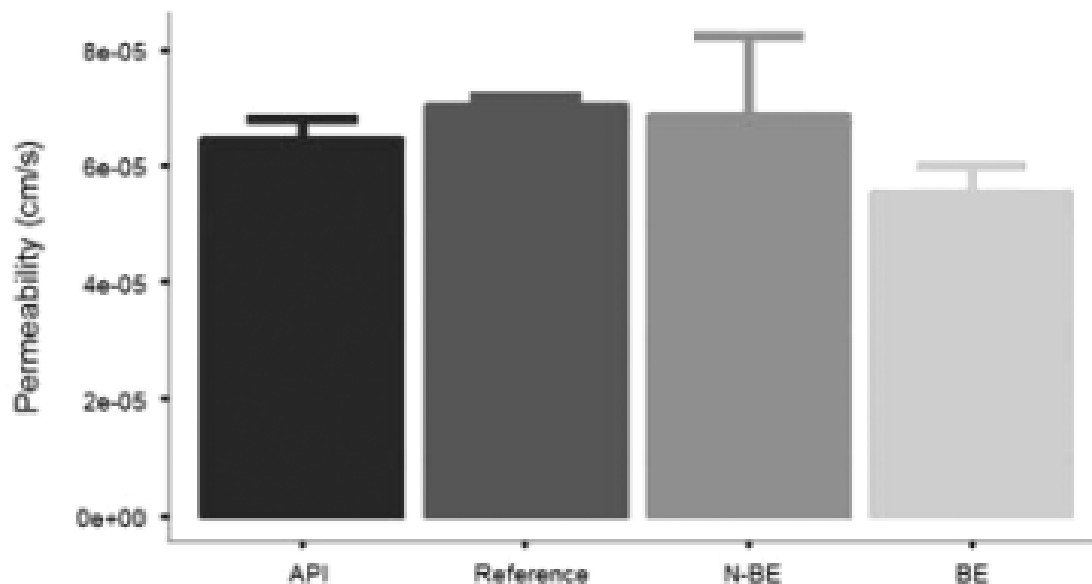


Figure 2. Zolpidem permeability as active substance and combined with the excipients of the different formulations: reference product, nonbioequivalent formulation (N-BE), and bioequivalent formulation (BE).

- 将不同处方中的辅料与原料一起做膜通过性试验，
- 结果显示几个处方的辅料对膜透过性几乎没有影响



## 原因分析

### 2. 是否崩解/溶出速率影响吸收？

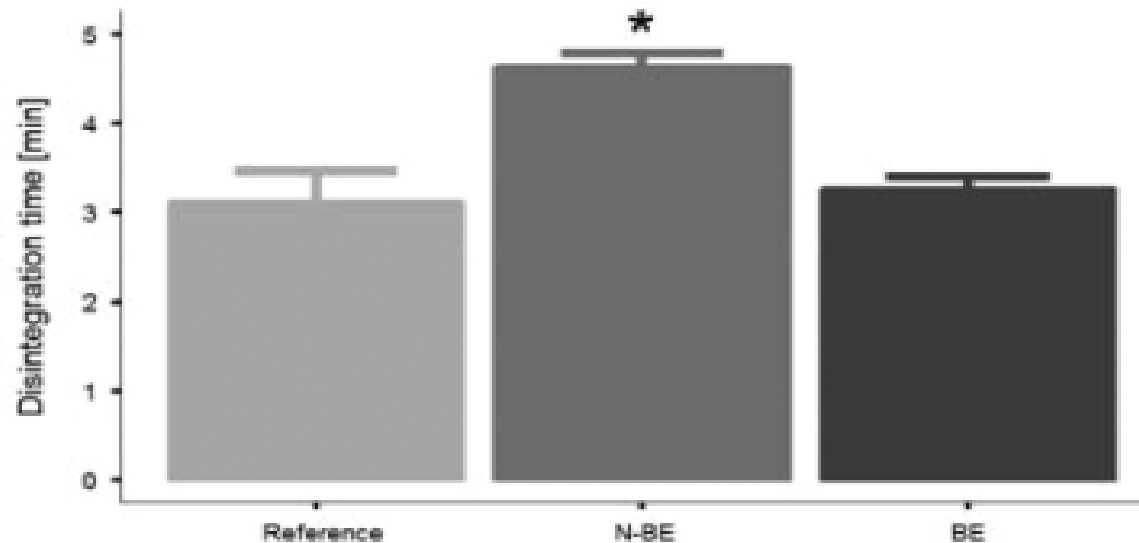


Figure 7. Disintegration times of zolpidem formulations: reference, BE formulation, and N-BE formulation. \*denotes statistically significant differences  $p < 0.05$ .

结果表明，不等效（N-BE）制剂的崩解时间明显长于原研制剂和等效制剂（BE）





采用30rpm考察三种制剂在pH1.2和pH6.8中的溶出

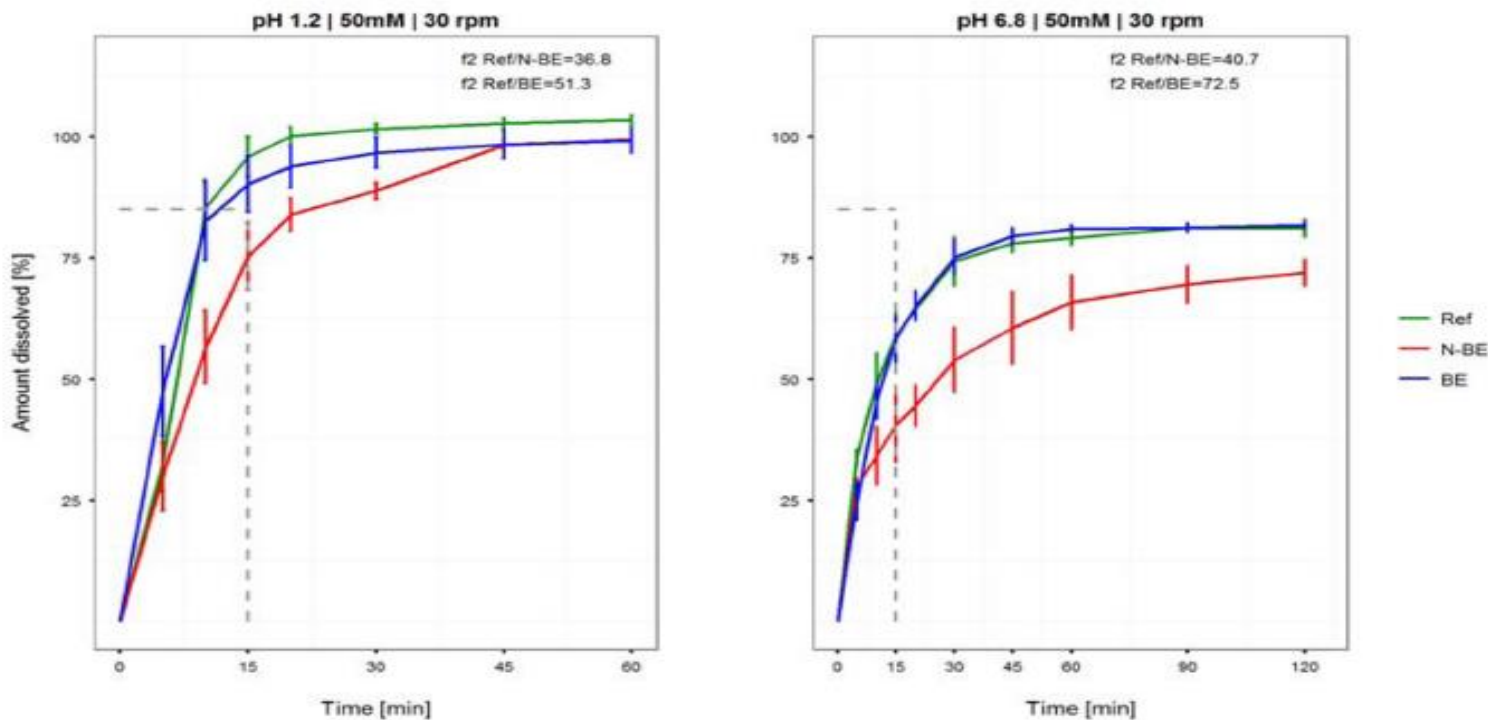


Figure 6. Dissolution profiles of three zolpidem formulations (reference product, nonbioequivalent formulation (N-BE), and bioequivalent formulation (BE)) in the paddle apparatus at 30 rpm in buffered media at pH 1.2 and 6.8.

- 可见N-BE溶出速率与原研制剂不相似，BE溶出速率与原研制剂相当。
- 所以，转速由50rpm降至在30rpm时的溶出曲线有较好的体内外相关性。



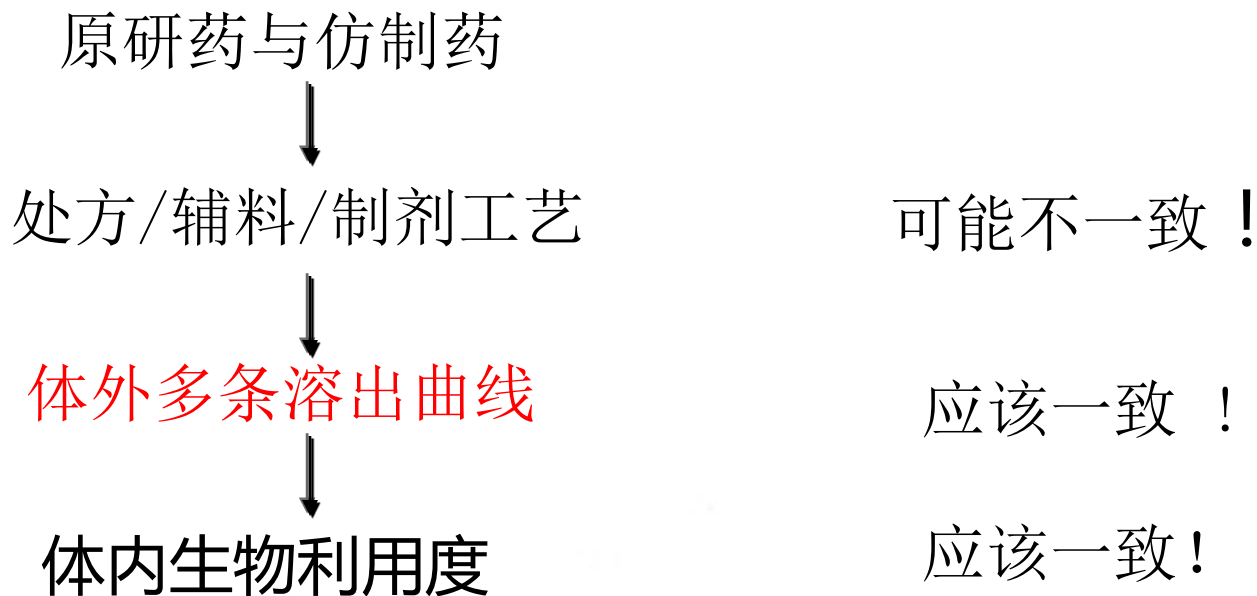
## □ 案例启示

- 1) 酒石酸吡唑坦具有高渗透性且半衰期较短（2.4h），能快速通过胃肠道生物膜吸收进入血液，迅速消除。
- 2) 这类药物，微小的溶出差异会对体内的 $C_{max}$ 产生显著影响，较低的溶出速率往往更加具有区分度。
- 3) 需要充分考虑药物体内吸收的特点选择与体内相关的溶出条件。



# 三、体外溶出行为评价

## □ 仿制药研发思路：与原研药一致



- ▶ 原研药的关键工艺、关键辅料的质控标准往往是企业的的机密，同时因原辅料来源、生产设备的不同，处方/辅料/制剂工艺很难与原研达到一致。



- 仿制药的研发思路就是要与原研药的体外和体内质量一致，
- 由于原研药的关键工艺、关键辅料的质控标准往往是企业的机密，同时因原辅料来源、生产设备的不同，处方/辅料/制剂工艺很难与原研达到一致。
- 因此，往往通过保证体外多条溶出曲线的一致性来保证体内的生物等效。



## □ 溶出度方法的选择

- FDA推荐的溶出度方法？
  - 法定的溶出度方法（如CP、USP）？
  - 具有区分力的溶出度方法？
  - 具有预测力的溶出度方法？
- 
- 是直接选择官方公布的方法？
  - 还是摸索出认为对体外处方有区分力的方法？
  - 还是通过体内外验证得到可以预测体内的方法？



## 案例2：溶出方法的选择

案例：美国FDA2011年推广QbD的案例，具有借鉴意义

- QbD即Quality by Design，质量源于设计 一是指是在可靠的科学和质量风险管理基础上，预先设定目标，强调对产品与工艺的理解及工艺控制的一个系统的研发方法。



□ 开发商品名Acetriptan(20 mg)速释片 (RLD) 的仿制制剂

□ Acetriptan整个生理pH范围内溶解性较差(0.015 mg/mL)

□ 为BCS 2类药物——药物溶出速率是吸收限制过程

□ 溶出方法的选择:

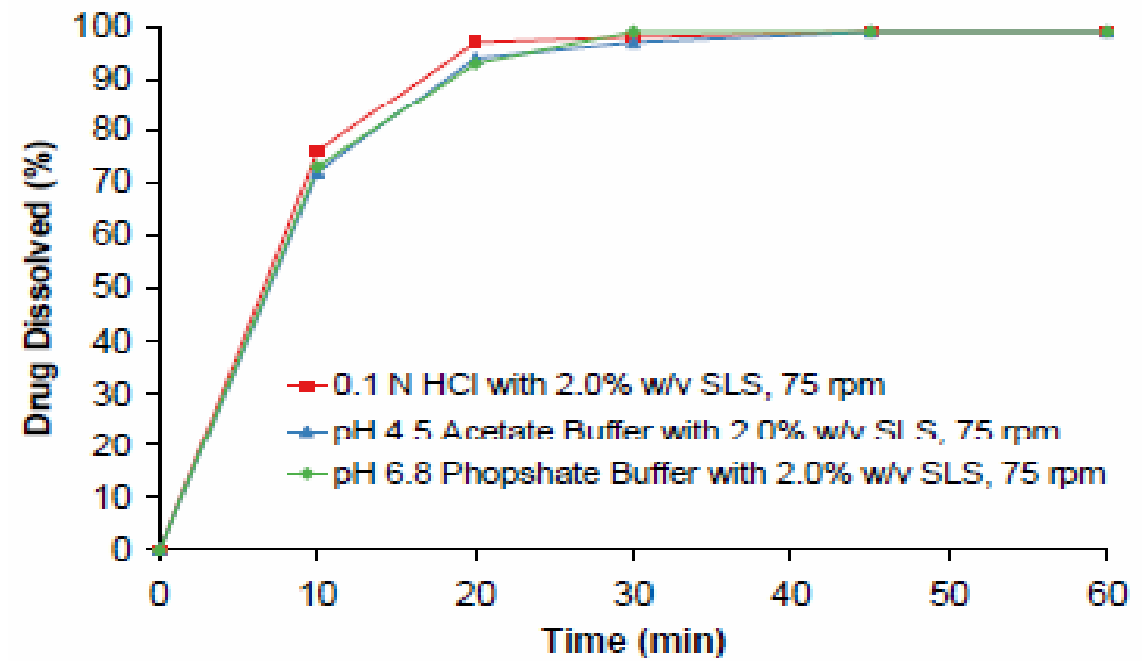
✓ 查阅美国FDA溶出方法数据库中推荐的方法

<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/index.cfm>

✓ FDA推荐的溶出方法: 桨法, 75 rpm, 溶出介质为900 mL 含 2.0% w/v十二烷基硫酸钠(SLS) 的0.1 N HCl



## 按FDA推荐溶出方法测定原研制剂(RLD)的溶出曲线



- ✓采用FDA推荐方法，RLD片剂显示出快速溶出，对介质pH值不敏感；
- ✓仿制制剂初始开发的处方(批次1~11)均显示出快速溶出(30分钟内溶出度不低于90%)，与RLD类似，说明该溶出介质区分度较差。



## □ 对溶出方法进行研究

Media	Solubility
--	(mg/mL)
0.1 N HCl	0.015
pH 4.5 buffer	0.015
pH 6.8 buffer	0.015

Table 6. Acetriptan solubility in different media

Media	Solubility
--	(mg/mL)
Biorelevant FaSSGF <sup>2</sup>	0.12
Biorelevant FaSSIF-V2 <sup>2</sup>	0.18
0.1 N HCl with 0.5% SLS	0.075
0.1 N HCl with 1.0% SLS	0.15
0.1 N HCl with 2.0% SLS	0.3

- ✓ 常规介质中溶解度低，整个生理pH范围溶解性较差；
- ✓ 对pH不敏感，优先选择0.1NHCL
- ✓ 结合FDA推荐方法，考察不同SLS的溶解度
- ✓ 考察生物相关介质（模拟人工胃液FaSSGF和肠液FaSSIF）
- ✓ 与生物相关介质溶解度相似的是1.0%SLS；
- ✓ 进一步考察0.1NHCL with 1.0%SLS的溶出情况



## 溶出方法的设计

由于FDA推荐介质不具有区分力，因而需要对溶出方法进行开发。

考察原研（RLD）在含有0.5%,1%,2% SLS的0.1NHCl 介质中的溶出度

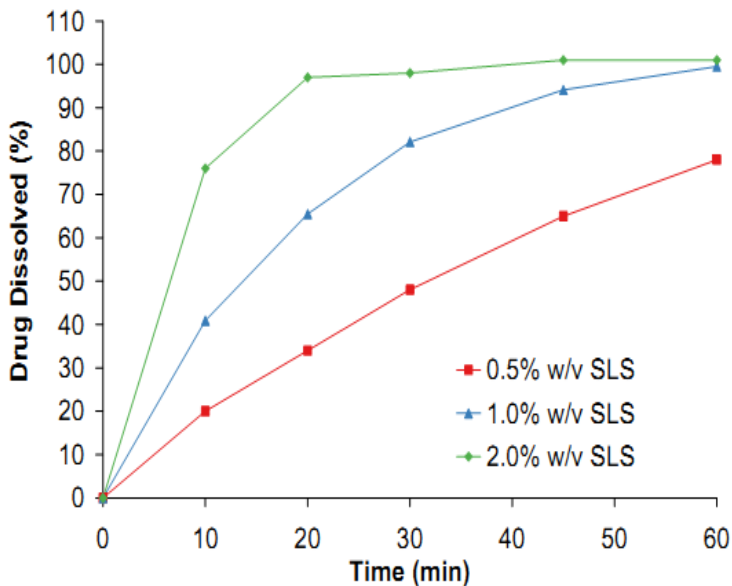


Figure 2. RLD dissolution profile in 900 mL of 0.1 N HCl with various SLS concentrations using USP apparatus 2 at 75 rpm

- RLD30min在0.5%SLS中溶出低于80%，1%SLS中溶出80%以上，
- 介质选择原则：最终释放量80%以上，溶出最慢的介质。
- 因此，选择1% SLS的0.1NHCl作为内部评价介质。





## □ 体内外相关性研究



使用内部评价介质对自制3个不同粒径制剂和原研制剂进行溶出试验

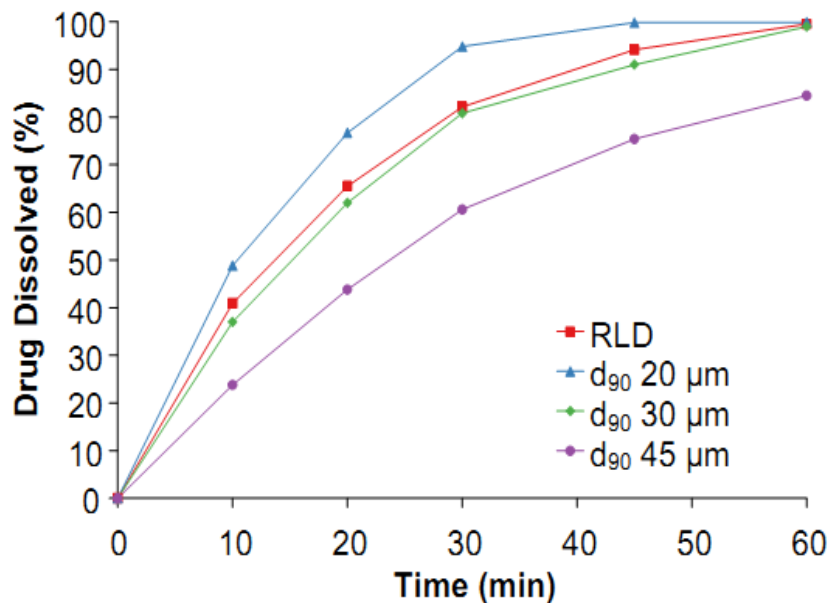


Figure 4. Dissolution of acetripitan tablets (RLD and three prototypes) using in-house method (900 mL of 0.1 N HCl with 1.0% w/v SLS using USP apparatus 2 at 75 rpm)

- 内部评价溶出介质对该BCS II 类药物粒度分布具有较好区分能力





## ☐ 体内外相关性研究

- ✓ 采用FDA推荐介质对自制3个不同粒径制剂和原研制剂进行溶出试验

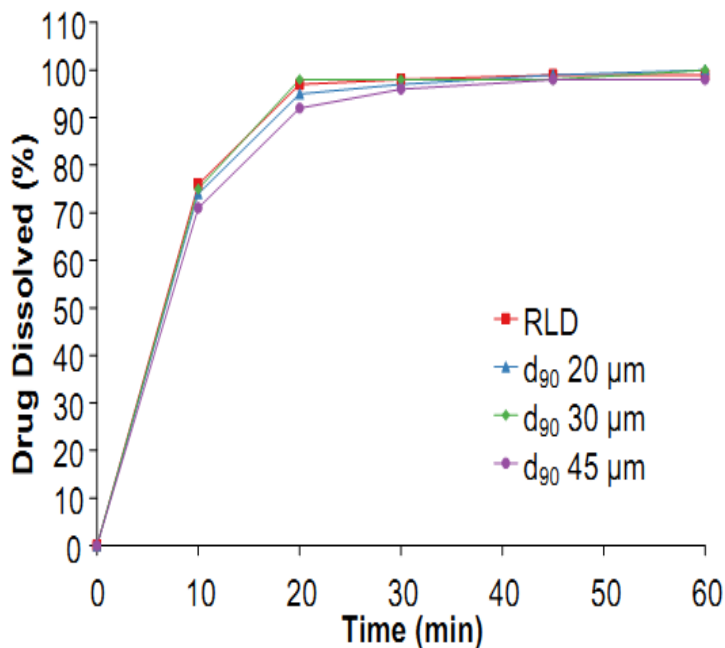


Figure 5. Dissolution of acetripitan tablets (RLD and three prototypes) using FDA-recommended method (900 mL of 0.1 N HCl with 2.0% w/v SLS using USP apparatus 2 at 75 rpm)

- FDA推荐介质(含2.0%SLS的0.1NHCl)对该BCS II 类药物处方的粒度分布不具有区分能力！





## □ 体内外相关性研究

- ✓ 对自制的3个不同粒径制剂和原研制剂进行体内BE试验

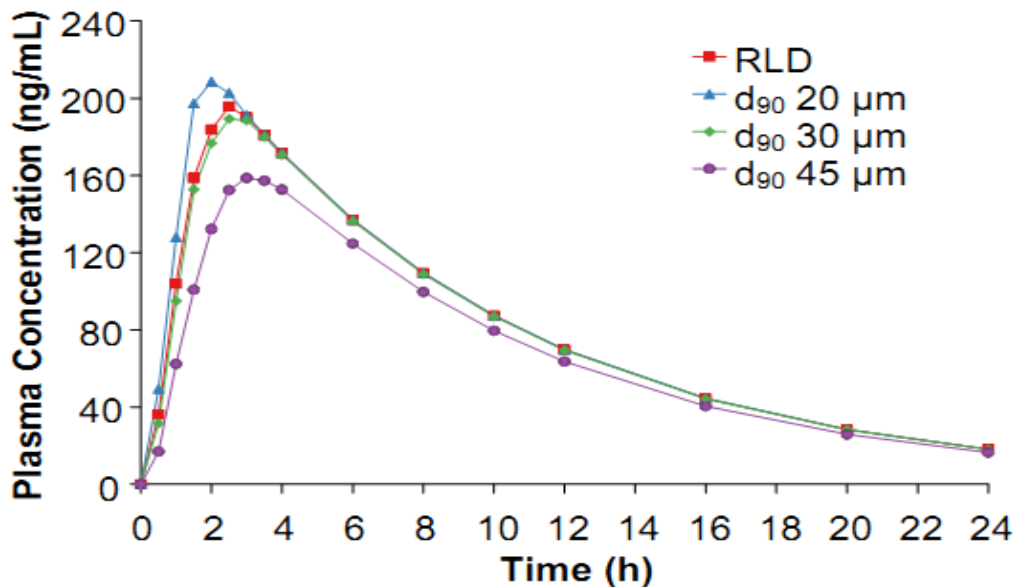


Figure 3. Mean PK profiles obtained from Pilot BE Study #1001

- 内部评价溶出介质(含1.0%SLS的0.1NHCl)对不同粒径处方有良好区分力，具有体内外相关性，
- 原料粒径应该控制在d9030微米以下。





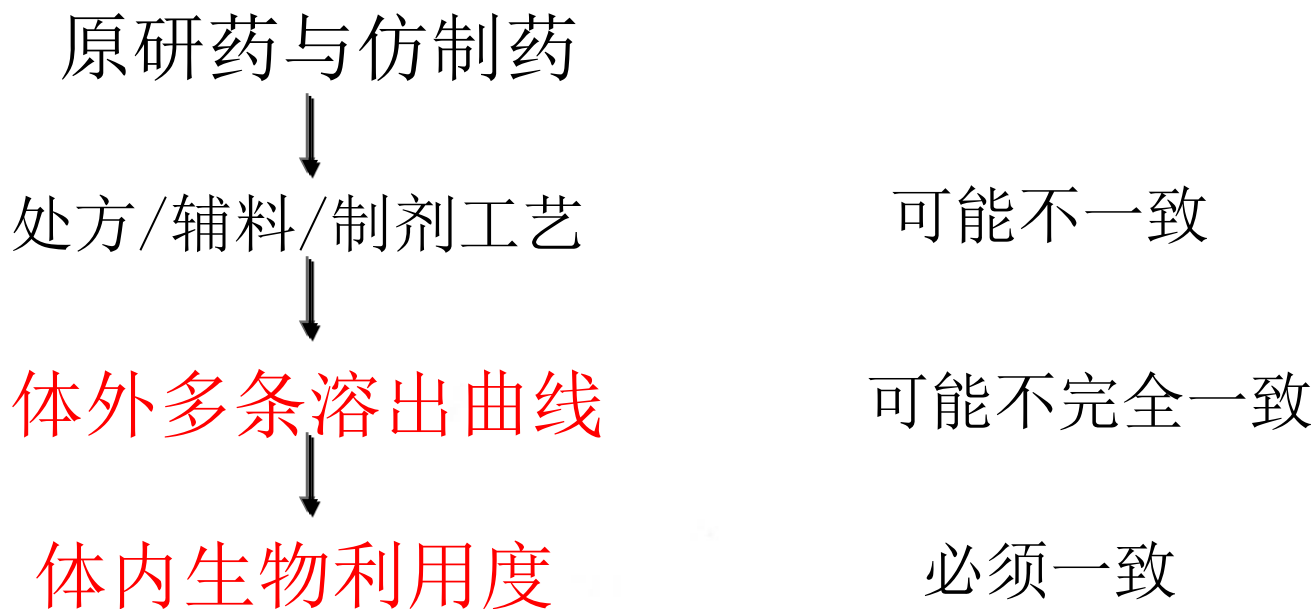
## □ 案例启示

- 1) 官方推荐的溶出条件往往较宽，有些品种无法根据该条件筛选处方或预测体内行为。
- 2) 体外体内相关的溶出条件往往是企业的核心机密，很难获得，因此需要摸索。
- 3) 生物相关介质具有参考意义，可以更好地模拟体内行为。



## 四、体外溶出与BE的关系

### □ 仿制药研发思路：与原研药一致



- ▶ 当体外多条溶出曲线无法一致时，如何评估体内一致性？
- ▶ 是否需要返工做到体外多条曲线一致？见案例3



# 案例3：拉莫三嗪片（原研：葛兰素史克）



## 拉莫三嗪片

- ✓ 治疗顽固性癫痫
- ✓ 规格：100 mg
- ✓ **BCS 2类药物**
- ✓ 较高的Caco-2 膜透过性
- ✓ pKa 为5.7，弱碱性药物
- ✓ pH依赖型药物



## 拉莫三嗪的溶解度

Table 2. Calculation of Dose Numbers ( $D_0$ ) for Lamotrigine Based on Solubility<sup>a</sup>

pH	dose strength (mg)	$C_s$ (mg/mL)	$D_0$
1.2	200	$1.09 \pm 0.01$	0.733
4.5	200	$2.53 \pm 0.08$	0.316
6.8	200	$0.210 \pm 0.007$	3.80

<sup>a</sup>The highest dose strength is 200 mg. The nominal volume is 250 mL.

- $D_0$ （剂量数）：药物在一定体积（250ml）水中的浓度与其饱和溶解度（ $C_s$ ）的比值。  $D_0 \leq 1$  表明为高溶解性药物。
- 药物在pH 1.2 和4.5为高溶解， pH 6.8低溶解。
- 药物总体为低溶解性、高渗透性，为BCS 2类。



# 上市的拉莫三嗪片质量评价

- ✓对3批原研、3批Teva仿制和其他4公司各1批次的仿制制剂
- ✓考察体外质量情况

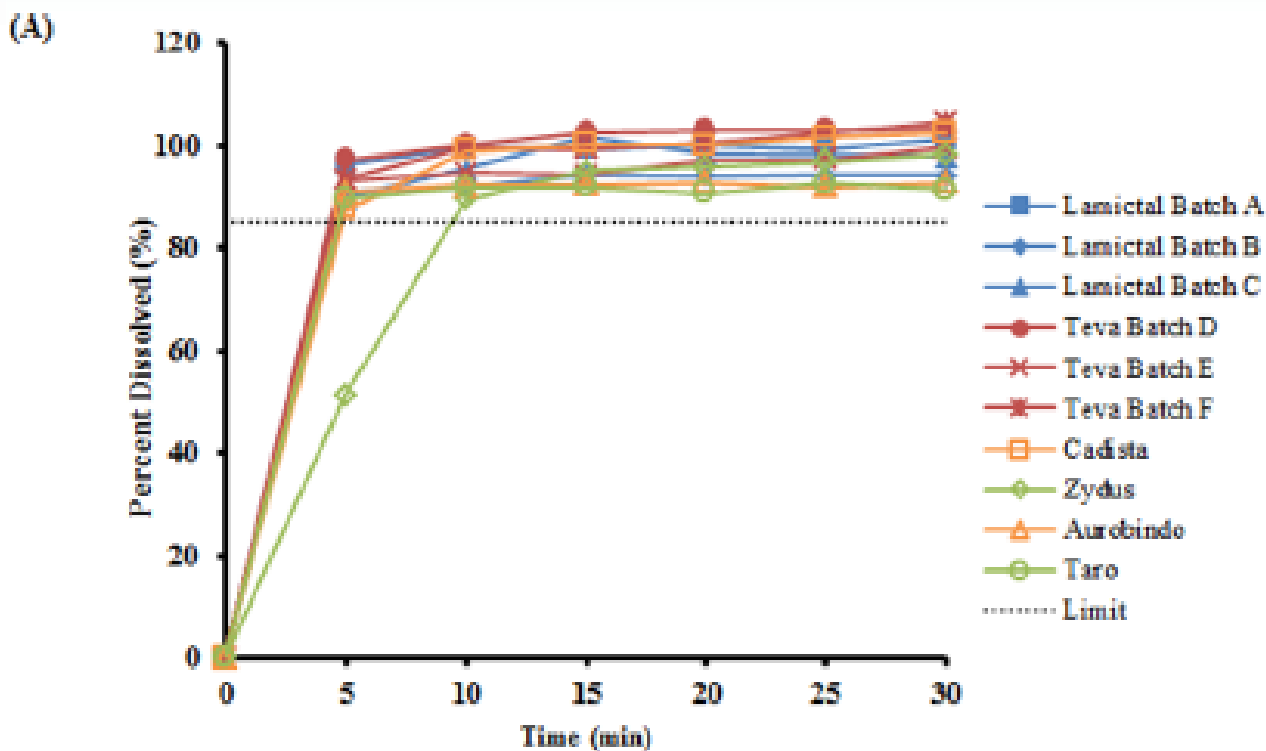
Table 1. Results of Quality Testing of Three Batches of Brand Name Lamictal, Three Batches of Teva, Cadista, Zydus, Aurobindo, and Taro Lamotrigine Tablets<sup>a</sup>

product	assay (%) <sup>b</sup>	related compound B impurity (%) <sup>c</sup>	related compound C impurity (%) <sup>c</sup>	total impurities (%) <sup>c</sup>	calculated acceptance value (%) <sup>d</sup>	uniformity of dosage forms (% CV)	disintegration time (s) <sup>e</sup>
Lamictal batch A	98.9	0.05	0.00	0.16	2.40	1.01	21 ± 1
Lamictal batch B	94.1	0.05	0.08	0.33	7.01	1.14	19 ± 1
Lamictal batch C	97.3	0.05	0.03	0.16	2.65	0.63	16 ± 1
Teva batch D	97.3	0.02	0.02	0.28	4.70	1.14	61 ± 3
Teva batch E	100.0	0.03	0.04	0.27	3.52	1.47	83 ± 2
Teva batch F	96.3	0.02	0.05	0.39	3.80	0.63	75 ± 2
Cadista	97.3	0.00	0.00	0.22	8.14	0.91	58 ± 2
Zydus	95.8	0.00	0.00	0.06	5.66	0.42	397 ± 7
Aurobindo	99.7	0.00	0.00	0.33	6.34	0.81	73 ± 2
Taro	97.3	0.00	0.00	0.002	6.62	0.93	48 ± 2

- 质量评价各项指标无显著差异，崩解时间稍有差异，但均符合USP标准 (Lamital 原研片；Lamotrigine Teva, Taro为仿制片)



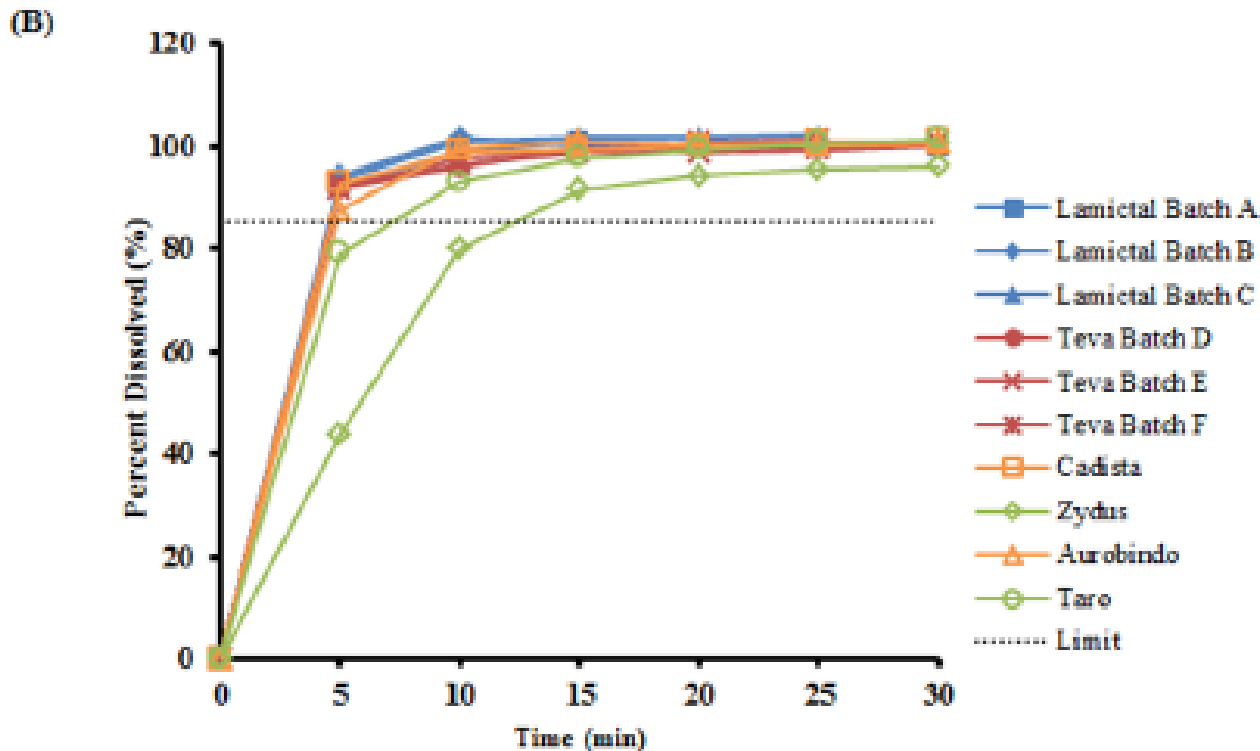
## 体外溶出曲线考察—900ml 0.1NHCL ( USP方法 )



- 各制剂在10min内均溶出85%以上,
- 与药物在pH1.2中的高溶解性是相关的。



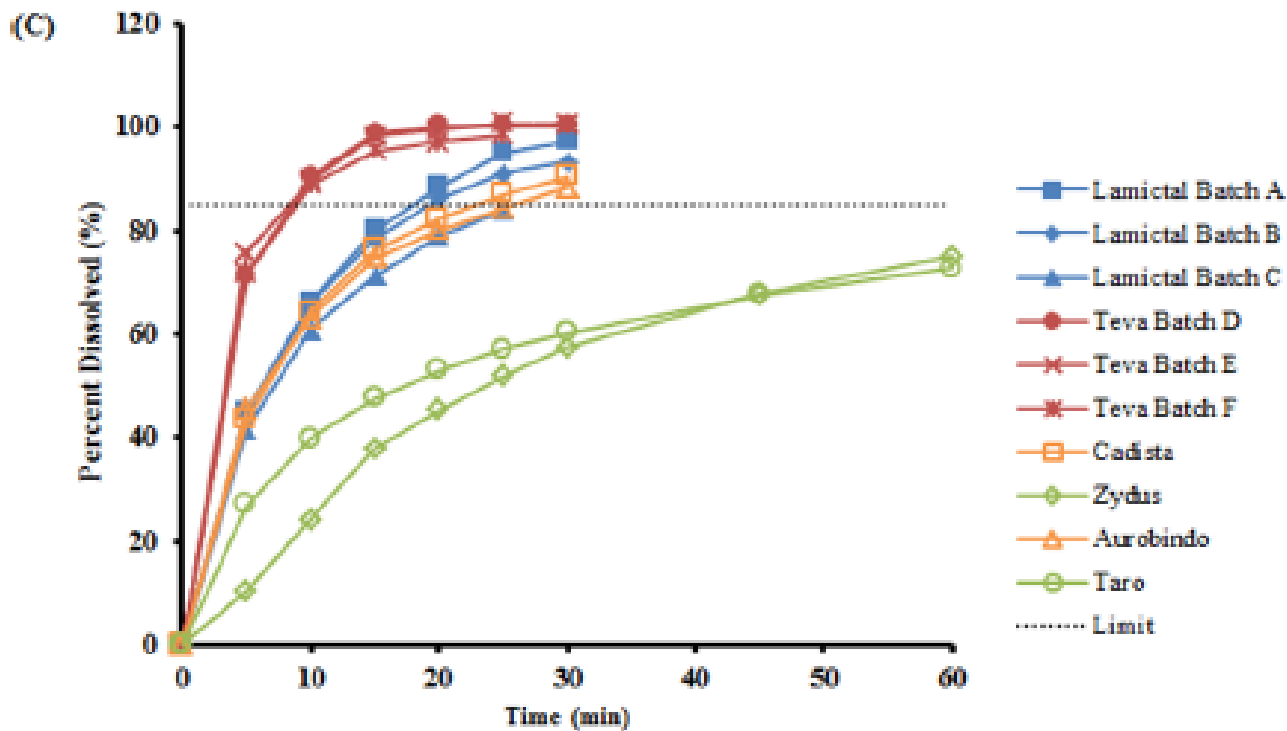
## 体外溶出曲线考察——900ml pH4.5介质



- 在pH4.5的介质中各个厂家在15min内均溶出85%以上。



## 体外溶出曲线考察—900ml pH6.8介质



- 在pH6.8中溶出速度整体慢于pH1.2和pH4.5
- Teva仿制片（lamotrigine）15min溶出达85%以上，包括原研公司在内多个厂家的产品30min内仍可溶出85%以上
- 但Taro和Zydus公司溶出速度较慢，1小时仍无法溶出完全。





## □ 仿制药一致性风险分析

- pH6.8溶出曲线不一致，是否认为仿制剂体内不一致风险很高呢，尤其溶出很慢的两个厂家的品种？



## 仿制药一致性风险分析：

- ✓ 拉莫三嗪BCS 2类药物，较高的Caco-2 膜透过性
- ✓ pKa 为5.7，弱碱性药物，pH依赖型药物
- ✓ 影响弱碱性药物吸收的因素：
  - 药物在胃内的溶解情况
  - 胃排空速率
  - 药物的膜通透性
  - 药物在肠内的析出情况



## 仿制药一致性风险分析

- ✓ 根据拉莫三嗪的溶解性、崩解度及溶出速率可知，药物可在胃内快速吸收，同时有较好的膜透过性，保证了药物变成溶液态后快速吸收；
- ✓ pH4.5（饱腹）溶出较好，提供良好吸收的保障；
- ✓ 综上，认为pH6.8的溶出差异对吸收影响不大。



# 体内一致性研证

... in the absorptive (AP-BL) and secretory (BL-AP) directions are listed in Table 3. Mannitol's low

Table 3. Permeabilities of Lamotrigine across Caco-2 Cell Monolayers<sup>a</sup>

compound	A-to-B permeability ( $\times 10^6$ cm/s)	B-to-A permeability ( $\times 10^6$ cm/s)
mannitol	2.55 $\pm$ 0.67	1.46 $\pm$ 0.15
metoprolol	21.2 $\pm$ 0.9	34.6 $\pm$ 4.6
lamotrigine	73.7 $\pm$ 8.7	41.4 $\pm$ 1.6

The apparent permeability ( $P_{app}$ ) values are presented as means  $\pm$  EM.

permeability indicated monolayer integrity. Overall, lamotrigine showed high permeability, by virtue of its higher permeability compared to that of metoprolol. Lamotrigine exhibited a



- 以Lamotrigine Taro仿制片为例，上述结果表明其具有良好的细胞膜穿透性；
- 进一步的体内药动学证明，Lamotrigine Taro仿制片的口服生物利用度达到98%。



## □ 案例启示

- 1) 对于BCS 2类弱碱性药物，在胃内具有较高溶解性，且渗透性较好，可以达到快速完全的吸收，因此可以忽略pH6.8中的差异。
- 2) 体外一致是体内一致的补充，体外溶出应充分结合生物学性质加以分析，充分考虑预测体内行为。



# 总 结

1

官方推荐的溶出条件往往较宽，有时无法根据该条件筛选处方或预测体内行为。生物相关介质具有参考意义，可以更好地模拟体内。

2

体内体外相关的溶出条件往往是企业的核心机密，很难获得，需要充分考虑药物的体内吸收特点进行选择。

3

体外一致是体内一致的补充，体外溶出应充分结合生物学性质加以分析考虑预测体内行为，切忌为了满足体外“四条曲线”而做溶出实验。



感谢聆听!