

资料和病人详细资料,能及时反馈给处方者;(2)处方者及时取得信息(如青霉素过敏、血清肌酐水平等),实时指导处方者作出决定,并可要求处方者回答问题。

8 结语

临床实践的全部目的是有利于发现问题和提高处方质量。但设计评价加强处方的研究不可避免地要落后于需要。

代谢物在生物等效性研究中的作用

黄世杰编译

(军事医学科学院毒物药物研究所,北京 100850)

摘要:代谢物在生物等效性研究中的作用争论已有几十年。本文分析了模拟生物等效性研究与4项口服母药,至少监视1种代谢物的研究后,可以认为这里没有简单化的通则,每个药物/代谢物的组合必须个别确定。对于注重安全性的生物等效性研究决策,建议应尽可能基于母药。

关键词:生物等效性;清除率;代谢物;个体间变异性

中图分类号: R969.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2005)02-0130-03

代谢物在生物等效性研究中的作用已有数十年的争论。在生物等效性研究中使用代谢物数据有以下理由:(1)母药是无活性的前药;(2)母药的血浆浓度太低,由于没有适当敏感的测定方法,不能监测;(3)母药迅速代谢成有活性的代谢物;(4)母药与代谢物虽均有活性,但代谢物的浓度较高。

1 生物等效性的药代动力学基础

生物等效性比较一种药物的两种制剂的生物利用度,通常由测量时间过程有关的血浆药物浓度来确定。美国法定生物等效性指测量从药品吸收中的一种活性药物或活性成分到达作用部位的数量和速率来确定药品的生物等效性。

2 生物等效性的统计基础

生物等效性的重要功能是保证一种药品的两种制剂在任何病人上可相互替代。为此用双单侧检验(two one-side test)药剂的生物等效性。双单侧检验基于个体间变异性(WSV)的统计学检验方法,此变异性通常可从方差分析的均差平方来估算。WSV常以“ANOVA-CV”表示,从下列方程中估算:

$$\text{ANOVA-CV} = \sqrt{\text{EXPS}_w^2 - 1} \times 100\%$$

EXP为指数,其90%可信限的宽度取决于WSV的幅度和在生物等效性研究中的个体数。一些药物

ANOVA-CV值较低(5%~15%),而另一些药较大(ANOVA-CV \geq 30%)。因此,较大的ANOVA-CV值需要较多的个体数,以得到适当的统计显著性。

3 FDA对代谢物在生物等效性中的作用的看法

FDA认为,生物等效性是指1个活性药物或活性成分,因此也可认为指1个活性代谢物,甚至可替代母药。如果代谢物对安全性或疗效有意义,代谢物和母药均应测定。

4 生物等效性研究中运用代谢物数据的简况

迅速代谢的药物其生物等效性研究中利用代谢物数据是明显的,因为代谢物常较母药变化少,试验只需较多个体即可获得统计显著性。例如,抗精神病药洛沙平单剂研究中,母药 c_{\max} 和AUC的ANOVA-CV值均大于其2个代谢物的任何1个,而代谢物的90%可信限均窄于母药。在稳态下比较单次口服剂量,其ANOVA-CV值一般较低。在稳态下研究了螺内酯的两种口服制剂,测定了母药与两个代谢物,即坎利酮和7- α -硫甲基螺内酯。结果发现代谢物的血浆浓度高于母药,故作者推荐在螺内酯制剂的生物等效性研究中应包括代谢物的数据。

5 内在清除率和“充分搅拌”的肝脏

Perrien和Gibaldi引入内在清除率(CL_{in})和“充分搅拌”肝功能模型。在此,肝脏萃取部分(E_H)是

CL_{int} 和母药未结合部分(f_u)的一个函数,见下列方程:

$$E_H = 1 - F = \frac{CL_{int} \times f_u}{Q_H + (CL_{int} \times f_u)} = \frac{CL_0}{Q_H + CL_0}$$

Q_H 是肝血流,为 $90 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$,当药物完全在肝中代谢时, CL_{int} 和 f_u 的乘积可估算表观口服清除率。内在清除率由下式给出:

$$CL_{int} = \frac{E_H \times Q_H}{F \times f_u} = \frac{CL_0}{f_u}$$

其中 E_H 和 Q_H 的乘积是肝清除率。

当药物完全在肝中代谢时,肝清除率接近静脉体内清除率,在此条件下,用肝清除率和吸收部分(F)来估算表观口服清除率。

6 生物等效性中代谢物作用的关键模拟研究

Chen 和 Jackson 将中央室分为两部分,为了适合母药在系统吸收前的吸收速率常数(k_a)和代谢物的形成速率常数(k_s)。此模型可提供通过肝脏再循环的代谢物的形成速率常数(k_f),该常数相应于静脉给药后的速率常数。此模型也反映母药进出组织室部分。从双变量常态分布和指定的随机误差中获得相对速率常数,产生母药与代谢物的血浆浓度对时间的曲线。该研究主要发现此模型能够区别母药和代谢物 c_{max} 的显著性,决定于母药吸收速率常数($WSV-k_a$)相对的 WSV 和首过代谢物形成速率常数($WSV-k_s$)相对的 WSV 。当 $WSV-k_a > WSV-k_s$ 的情况下,母药 c_{max} 可信限的宽度总大于代谢物 c_{max} 的可信限。反之,当首过代谢物较母药前系统(presystemic)吸收的 WSV 大时(即 $WSV-k_s > WSV-k_a$),则代谢物的 c_{max} 可信限宽于母药的 c_{max} 可信限。

基于 CL_{int} 和“充分搅拌”的肝脏的生物等效性模拟研究,Weiss 提出基于药物及其代谢物动力学的药代动力学模型。此模型依赖于“充分搅拌”的肝脏,而 f_u 归入 CL_{int} 。按 k_a 和单一代谢物形成速率常数(f_m),分布容积、肝血流、 CL_{int} 和肾清除率的 WSV 值,从 20% ~ 60% 进行模拟。假定 k_a 与参比比(k_{aT}/k_{aR})和药物吸收进入体循环与参比比(F_T/F_R)在每个研究测试时的比率均分别为 1.0 和 1.25。结果显示在 CL_{int} 低于肝血流时, k_a 的 25% 差别对 c_{max} 无明显影响。因此,当 CL_{int} 小于肝血流时,生物等效性对母药和代谢物的机率都是相同的。当 CL_{int} 达到或超过肝血流时, k_a 的 25% 差别可使母药变化,而代谢物依然不受影响,故代谢物数据较母药

数据有更大的机会用于生物等效性的结论。

7 应用于实际生物等效性研究的数据

7.1 多塞平和 *N*-去甲多塞平

多塞平是一种抗抑郁药,市售为其几何异构体的混合物,占 15% 的 (*Z*)-多塞平异构体活性较高,占 85% 的 (*E*)-多塞平异构体活性较低。多塞平生物转化为多种代谢物,而主要是有活性的 *N*-去甲多塞平,应是治疗活性的组成部分。基于母药的生物等效性,只能测出总多塞平血浆浓度,而母药中的活性 (*Z*)-异构体在血浆中浓度太低,只有 3/30 人中测出。(*Z*)-多塞平在肝血流大时 CL_{int} 较大,而两种异构体的 *N*-去甲多塞平血浆浓度均足够进行监视。因此,从药代动力学和临床观点确定多塞平的生物等效性,以测定比较两种制剂的活性代谢物 (*Z*)-*N*-去甲多塞平的水平较为合理。

7.2 去甲替林和 10-羟基去甲替林

去甲替林是细胞色素 (CYP2D6) 的基质,在 10 位上羟化,且有高立体异构性,因而产生两种几何和光学异构体。(-)-(*E*)-10-羟基去甲替林是具有药理活性的主要代谢物,其抗抑郁作用好于母药。大多数病人有高于去甲替林的 (-)-(*E*)-10-羟基去甲替林水平,除了少数低 CYP2D6 患者只产生少量羟基代谢物外。去甲替林的 $E_H = 0.35$, CL_{int} 超过肝血流 ($CL_{int} = 600 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$) 提示有治疗性活性代谢物。(±)-10-羟基代谢物的 c_{max} 和 c_{max}/AUC 的 WSV 均大于母药。其活性代谢物 (*E*)-10-羟基去甲替林的 c_{max} 和 AUC 的测定,将最适合于确定去甲替林两种制剂的生物等效性。但在那些活性代谢物血浆水平低于母药者,用代谢物数据确定生物等效性的可靠性就存在问题。

7.3 阿莫沙平、7-羟基阿莫沙平和 8-羟基阿莫沙平

8-羟基阿莫沙平是阿莫沙平的主要代谢物,能阻断去甲肾上腺素的摄入,其阻断 5-羟色胺重摄取作用较母药更强。而较次要的代谢物 7-羟基阿莫沙平在阻断去甲肾上腺素与 5-羟色胺重摄取的作用强度大致相当,对多巴胺受体和对多巴胺敏感的腺苷环化酶结合活性与抗精神病药洛沙平相似。7-羟基阿莫沙平的 AUC_{last} 为母药的 1/9,而 8-羟基阿莫沙平的 AUC_{last} 则比母药高 3 倍。因此认为对阿莫沙平等效性的确定,应基于 8-羟基代谢物上。

7.4 洛沙平、7-羟基洛沙平和 8-羟基洛沙平

洛沙平活性代谢物 8-羟基洛沙平量最大,其

AUC_{last} 高于母药 3.6 倍, 而 7-羟基洛沙平的 AUC_{last} 只稍多于母药的一半。因此, 洛沙平两种制剂的生物等效性确定, 应基于血浆浓度大于母药的 8-羟基代谢物上。

8 结语

不能用简单方法决定生物等效性研究使用代谢物数据, 即便在最单一的情况下。每种药及其代谢物的基本药代动力学性质和个体间变异性必须进行预期的和个别的检验。若母药是无活性物(即前药)或母药的血浆浓度低到不能测出时, 可选择代谢物作为测定对象。确定生物等效性有两种目的: 通过

治疗的生物等效性, 可作为替代药物, 或者作为观察两种制剂的质量指标。在有多个代谢物时, 即有活性, 毒性或无活性代谢物时, 或有时相 I 和时相 II 生物转化时, 其于母药的生物等效性是最安全的。

对特定药物决定用代谢物数据研究生物等效性前必须首先取得药物管理部门的同意, 还应与研究负责人交流, 以便安排恰当采血时间表, 取得足够样本, 确切定义代谢物的 t_{max} 和 c_{max} 。多重分析应避免在后期提交评价报告, 可能导致消费者和制药者均不能接受的危险。对医生和药剂专家来说, 最重要的是能向病人保证所有口服药品均为高质量制剂。

硫代反义寡核苷酸质量控制方法的研究进展

张 崑综述 王升启审校

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

摘要: 综述了高效液相色谱(HPLC)、毛细管电泳(CE)、质谱(MS)和核磁共振(NMR)在硫代反义寡核苷酸质量控制中的应用。硫代修饰的反义寡核苷酸可以抑制基因的表达, 在病毒感染和癌症治疗方面有着重要用途。药物要用于临床, 必须对活性成分和生产相关的杂质进行鉴别、检查。对于硫代寡核苷酸, 由于其结构特殊, 必须综合运用包括 HPLC, CE, MS 和 NMR 在内的多种分析手段控制其质量。HPLC 和 CE 技术用于对杂质和活性成分进行定性、定量分析; NMR 可以精确地确定硫代产物的含量; MS 则能够在测定硫代寡核苷酸分子量的同时确认其序列的正确性。

关键词: 硫代反义寡核苷酸; 高效液相色谱; 毛细管电泳; 质谱; 核磁共振

中图分类号: R927.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2005)02-0132-05

反义寡核苷酸是能与特定的 DNA 或 RNA 以碱基互补序列配对的方式结合并阻止其转录和翻译的短核酸片段。反义寡核苷酸可用于病毒性疾病、心血管系统疾病、感染性疾病及癌症等许多疾病的治疗^[1]。为了增加天然反义寡核苷酸的稳定性、提高其生物利用度, 必须对反义寡核苷酸进行适当的化学修饰。其中最具有代表性的是硫代修饰的反义脱氧寡核苷酸, 即磷酸二酯键中的一个非桥氧原子被硫原子所取代。作为药物, 要满足临床用药, 质量控制不可缺少。而质量控制的重点在于评价药物纯度、鉴别相关杂质并对活性成分进行定量分析。通常, 纯化后的硫代寡核苷酸中含有少量($n-1$)、($n-2$)

失败序列和($P=O$)₁ 硫代不完全序列。由于硫代寡核苷酸的结构特殊, 杂质与产品间结构极为相似, 硫代反义寡核苷酸质量控制的关键在于多种分析手段的综合运用。本文综述了高效液相色谱(HPLC)、毛细管电泳(CE)、质谱(MS)和核磁共振(NMR)在硫代反义寡核苷酸质量控制中的应用。

1 高效液相色谱法

HPLC 法对硫代寡核苷酸的分析具有良好的耐久性, 分析工作中通常使用阴离子交换色谱。其原理是利用不同长度磷酸骨架所带电荷的差别进行分离, 适合于分离 2~30 mer 的寡核苷酸, 并随着寡核苷酸长度的增加分辨率降低^[2]。由于对硫代寡核苷酸骨架上的差异非常敏感, 离子交换色谱可很好地分离长度相同的硫代和未完全硫代类似物, 随着未

收稿日期: 2004-11-02

基金项目: 国家“863”基金资助项目(2002AA2Z3337)和国家自然科学基金资助项目(3017111)