

生體相等性試驗之技術考量

曾嶽元^{1,2}

¹國泰綜合醫院病理暨檢驗醫學部，台北，台灣

²輔仁大學醫學系，台北，台灣

摘要

受試 (tested) 藥品的生體相等性 (bioequivalency; BE) 乃是由所選擇的藥動學參數 (pharmacokinetic parameter) 和預定的允收範圍來決定。在「生體相等性」研究中，血漿的「濃度時間曲線 (concentration time curve)」常被用來評量吸收的速率和程度。「濃度時間曲線」下之面積 (AUC) 反映接觸的程度。受到吸收速率影響的參數包括： C_{max} (血漿最高濃度) 和 t_{max} (到達血漿最高濃度的時間)。統計分析方法應採用變異數分析 (ANOVA)，受試藥品與對照藥品之比值的90%信賴區間應在0.8至1.25之間，才達到允收標準。(生醫 2015;8(1):37-42)

關鍵字：生物利用度 (bioavailability; BA)、生體相等性 (bioequivalency; BE) 試驗、受試藥品、藥動學參數 (pharmacokinetic parameter)

前言

學名藥在上市前必須證明具有與原廠藥相同之主成份和相同的藥理型態，而且在生物利用度 (bioavailability; BA) 研究中證明有生體相等性 (bioequivalency; BE)。建立生體相等性的用意是，顯示學名藥和對照藥品有相等的生物藥理品質，以便學名藥能使用對照藥品的臨床前檢驗和

臨床試驗。根據民國102年頒布的《藥品生物利用度及生體相等性試驗準則》⁽¹⁾，所謂「生物利用度」係指「藥品有效成份由製劑中吸收進入全身血液循環或作用部位之速率 (rate) 與程度 (extent) 之指標。如係不具全身性吸收之藥品，則指以有效成份到達作用部位之速率與程度作評估之指標」。至於「生體相等性」則是指「二個藥劑相等品或藥劑替代品，於適當研究設計下，以相同條件、相同

通訊作者：曾嶽元 教授

電話：886-2-2690-7965 ext 2518

傳真：886-2-2691-9800

地址：106 台北市仁愛路四段280號 病理暨檢驗醫學部

電子郵件：jeffbucknell@gmail.com

莫耳劑量 (molar dose) 給與人體時，具有相同之生物利用度」。

執行生體相等性試驗必須使用已經過確認的方法、從至少12名受試者中收集適時且足夠數目的樣本、計算適當的藥動學參數 (pharmacokinetic parameter) (表一)，並通過嚴格的統計分析。本篇文章從檢驗的技術和統計觀點來討論生體相等性試驗。

表一、藥動學參數

$Ae_{(0t)}$	由起始時間至試驗終止時間尿中排出藥之累積量之值，亦即從開始用藥到時間點t之間，未改變藥品 (unchanged drug) 之累積的尿液排出量。
AUC	血漿濃度曲線下之總面積 (area under the plasma concentration curve)
$AUC_{(0-t)}$	從開始用藥到時間點t之間，血漿濃度曲線下之面積 (t: 最終採血點時間)。
$AUC_{(0-\infty)}$	外插至無限時間點之血漿濃度曲線下之面積
$AUC_{(0-\tau),ss}$	穩定狀態之一個服藥間隔曲線下總面積 (τ : 一個給藥間隔時間)
$AUC_{(0-72h)}$	從開始用藥到72小時時間，血漿濃度曲線下之面積。
C_{max}	最高血漿濃度
$C_{max,ss}$	穩定狀態之最高血濃度
residual area	外插之面積，即 $(AUC_{(0-\infty)} - AUC_{(0-t)}) \div AUC_{(0-\infty)}$ 。
R_{max}	藥在尿中排出最高速率
t_{max}	到達 C_{max} 的時間
$t_{max,ss}$	到達 $C_{max,ss}$ 的時間
$t_{1/2}$	血漿濃度半衰期
λ_z	最終速率常數

取樣時間

必須收集足夠數目的樣本才足以描述血漿濃度和時間的關係，而抽血時間則應起碼持續至少達 C_{max} 後3倍以上之藥品排除半衰期。取樣時間表 (sampling schedule) 必須在預期的 t_{max} 附近安排頻繁的採樣，以對最高接觸點提供一個可信賴的預估。特別是，取樣時間表必須設計好以避免 C_{max} 變成濃度時間曲線上的第一個點。取樣時間表所涵蓋的「血漿濃度時間曲線」必須足夠的長，以對藥品接觸 (exposure) 程度提供一個可靠的估計，因為 $AUC_{(0-t)}$ 應涵蓋至少80%的 $AUC_{(0-\infty)}$ 。在末端「對數線性區段 (terminal log-linear phase)」需至少採取3至4個樣本，才足以可靠地估計末端速率常數 (terminal rate constant)，而此常數為估計 $AUC_{(0-\infty)}$ 所需。72小時的截平曲線下總面積 ($AUC_{(0-72h)}$) 可取代 $AUC_{(0-t)}$ 以比較exposure程度，因為速放製劑 (immediate release formulations) 的吸收期已涵蓋72小時。對於速放製劑而言，不管藥品的半衰期有多長，超過72小時的取樣時間是沒必要的。

對於多劑量的研究而言，用藥前的樣本必須在服藥前五分鐘內取得。而最後一個樣本，則必須在給藥間隔 (dosage interval) 標定時間的10分鐘內取得，以確保能夠準確地訂定 $AUC_{(0-\tau),ss}$ 。

如果尿液是作為試驗的生物樣本液體，那麼尿液的收集時間就必須超過末端清除 (terminal elimination) 半衰期的三倍。然而就像是血漿樣品的收集那樣，尿液的收集也不需要超過72小時。如果要訂定排泄的速率的話，那麼在吸收期收集尿液

的區間就是愈短愈好。

對於內源性物質，取樣時間表應能夠對每一受試者在每一階段描述其內源性底線輪廓。底線常由用藥前的2至3個樣本決定。有時因為生理時鐘，需要在開始服藥前取樣1至2天以應付起起伏伏的內源性底線。一般而言，生體相等性試驗應在空腹情況下進行，因為這是偵測潛在差異最敏感的狀態。對於仿單已指出需空腹服用的藥品或沒特別註明者，生體相等性試驗要在空腹情況下進行。至於仿單中指明需飯後服用的藥品，生體相等性試驗則不能在空腹下進行。然而，有些特殊規格製劑的產品，例如微乳膠（microemulsions）、固體分散體（solid dispersions），其生體相等性試驗要在空腹和飯後情況下進行，除非該產品指出僅能在其中一種情況下進行。當需要空腹和飯後的數據時，可執行兩個雙向交叉研究（two-way cross-over study）或一個四向交叉研究（four-way cross-over study）。

對於需要飯後進行的生體相等性試驗，用餐內容需根據仿單的建議。如果仿單沒有建議，那麼就用高脂肪及高卡路里餐（亦即800到1000大卡，其中一半來自脂肪），並應說明餐飲的組成：醣類、蛋白質、脂肪各幾公克，分別有多少熱量。

藥動學檢測方法

生物分析（bioanalytical）方法必須清楚地描述且被「確認過（validated）」，因而研究完畢後能產生可靠的結果以用來判讀。方法確認（validation）的項目包括：準確度（accuracy）、

精密度（precision）、選擇性（selectivity）、檢量線性能（calibration curve performance）、最低定量濃度（lower limit of quantification）、基質效應（matrix effect）以及檢體之安定性（stability）等。關於準確度方面，各濃度平均值應在理論值之15%範圍內，且最低定量濃度應在理論值之20%範圍內（亦即不超過 C_{max} 的5%以確保能偵測出用藥前之微量血漿濃度）。精密度方面，每個濃度之變異係數（coefficient of variation）不得超過15%，且最低定量濃度之變異係數不得超過20%。檢體之安定性包括：冷凍與解凍安定性（freeze and thaw stability）、短期室溫安定性（short term temperature stability）、長期安定性（long term stability）、貯液安定性（stock solution stability）、分析期間安定性（post preparative stability）。使用之分析方法應能測得原始試驗藥品或其代謝物，並能得到「最低可測得濃度」。在確認過程中，每次檢測都需使用品管樣本。

如以受試藥品之代謝物作為分析標的，研究者應事先經中央衛生主管機關認可，且樣本檢測研究者不應知道治療的資訊。此外，除非事前在計畫書已有說明，否則樣本不得重新檢測，不然會造成偏差。原則上，生體相等性試驗以血、尿中之藥品的原先化合物（parent compound）濃度為評估標的，但必要時可以其代謝物（metabolite）濃度或以適當之藥理反應及臨床效應為對象。在評估不同製劑之吸收速率的差異時，原先化合物之 C_{max} 比代謝物之 C_{max} 有較高的敏感度。

生體相等性試驗較常由血漿藥品之濃度來評

估。對於此方面之評估，應比較下列各藥動學參數（表一）：

- 速放劑型（immediate release dosage forms）之單劑量試驗和控釋劑型之單劑量試驗（應一併執行高脂肪及高卡路里之食物影響試驗）： t_{max} 、 C_{max} 、 $AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-\infty)}$ 。半衰期長且分布及清除率呈現個體內變異性低之藥品，經事先提出申請且核定者，可免除 $AUC_{(0-t)}$ 和 $AUC_{(0-\infty)}$ ，而使用截平曲線下總面積（truncated AUC）。如採樣區間為72小時者，應報告 $AUC_{(0-72h)}$ 。
- 速放劑型之多劑量試驗和控釋劑型之多劑量試驗： $t_{max,ss}$ 、 $C_{max,ss}$ 及 $AUC_{(0-\tau),ss}$ 。
- 除上述之藥動學參數外，有時得依藥動學原理比較其它有關參數，如最終速率常數（ λ_z ）和血漿濃度半衰期（ $t_{1/2}$ ）。

生體相等性試驗較少使用尿液評估。但若如此的話，應比較藥品在尿中各時段所測得之排出量，及由起始時間至試驗終止時間由尿中排出藥品之累積量的值，亦即從開始用藥到時間點 t 之間，由尿液排出之未改變藥品（unchanged drug）的累積量（ $Ae_{(0,t)}$ ）。必要時，得依藥動學原理比較其它有關參數，如藥在尿中排出之最高速率（ R_{max} ）。

統計分析

理想情況下，所有治療的受試者都需納入分析。但是如果交叉試驗（crossover trial）不帶有可能評估數據的個案，則不該納入分析。分析時，每位受試者都需被平等地對待。計畫書不應安排「備

胎」以取代被剔除的受試者，即便沒有受試者退出，所有治療的受試者都需納入分析。一般而言，排除的理由包括嘔吐和腹瀉，因為這些副作用會影響血漿濃度。在罕見的情況下，受試者會因服用其它藥品而被剔除。

由於隨機試驗必須是無偏差的，因此，不論受試者的治療或結果如何，受試者的排除需根據相同的規定。所以，需在分析前決定是否排除。然而，應儘量避免數據的排除，以免減低研究的檢定力。排除的需要可在計畫書裡事先擬定好，試驗開始後若出現這些事件，應在個案報告表（Case Report Form; CRF）裡記載。剔除出現這些事件的受試者需在研究報告裡清楚地說明並列表。被剔除的受試者其樣本仍需檢驗，而且結果也應列表。

研究者不能單獨因為統計分析或藥動學的理由來排除受試者，因為研究者無從分辨到底是製劑還是其它因素影響藥動學。不過，以下情況例外：

- 當受試者之血漿濃度太低或根本測不到時，可例外地接受此理由來排除受試者。不過在這種情況下，試驗的確效也令人產生疑慮。在此所謂的「太低」是指，受試者血漿濃度之AUC不到對照品平均AUC之5%，當然對照品平均AUC之計算是包括離群值的。對於立即釋放之製劑而言，此情況之發生乃因受試者之非順從性（non-compliance）所致。所以，研究人員應在受試者口服試驗用藥後，以口頭詢問受試者是否確實吞藥。
- 試驗分析應排除服藥前之藥品血中濃度超過5% C_{max} 之受試者。對於立即釋放之製劑而言，此情況之發生乃因受試者之洗除期間（washout

period) 不足所致。所以，研究人員應在於設計研究時訂定足夠的藥品洗除期間。

在交叉試驗中，服藥前之藥品血中濃度不得超過 C_{max} 之5%，且在兩次處理期間 (treatment period) 應有適當之藥品洗除期間 (washout period)。原則上，洗除期間至少應為該藥品排除半衰期之5倍。

在前一階段結束後，下一階段用藥前，應檢測血漿濃度以評估沾染效應 (carry-over effects)。如果超過 C_{max} 之5%，那麼該受試者的樣本數據就必須完全剔除。若因此而使受試者人數少於12人，此生體相等性試驗即宣告失敗。不過，此原則不適用於內源性的藥品 (endogenous drugs)。

$AUC_{(0-t)}$ 應涵蓋至少80%的 $AUC_{(0-\infty)}$ 。如果 $AUC_{(0-t)}$ 涵蓋不到 $AUC_{(0-\infty)}$ 的80%，那麼受試者就不應排除於統計分析。然而，如果仍超過 $AUC_{(0-\infty)}$ 的20%，那麼試驗之確校值得討論。不過，這不適用於採檢期為72小時或更長者，以及使用 $AUC_{(0-72h)}$ 而非使用 $AUC_{(0-t)}$ 者。

統計分析方法應採用變異數分析 (ANOVA)，不可作無母數分析 (non-parametric analysis)。進行ANOVA時生物利用度應先取對數值 (logarithmic transformation)。 α 值設定為0.05，再計算藥品效應 (treatment effect) 之90%信賴區間 (confidence interval; CI)。用於統計分析之生物利用度，全部以對數值計算90% CI，再取此信賴區間之反對數值的90% CI。原則上各項參數

($AUC_{(0-t)}$ 、 $AUC_{(0-72h)}$ 、 C_{max} 、 $AUC_{(0-\tau),ss}$ 、 $C_{max,ss}$) 之允收條件，受試藥品與對照藥品之比值的90% CI 應在0.8至1.25之間。更仔細地說，四捨五入在小數點取兩位數後，下限應 $\geq 80.00\%$ ；而上限應 $\leq 125.00\%$ 。殘餘面積 (residual area) 亦即外插之面積，等於 $(AUC_{(0-\infty)} - AUC_{(0-t)}) \div AUC_{(0-\infty)}$ ，此數值應不超過20%。換句話說， $AUC_{(0-t)}$ 與 $AUC_{(0-\infty)}$ 之比值得不得小於0.8。 $Ae_{(0-t)}$ 之允收條件應比照 $AUC_{(0-t)}$ ； R_{max} 之允收條件則比照 C_{max} 。一般而言， t_{max} 不需作統計評估。不過，如果宣稱藥品之快速釋放關乎於臨床用藥，且對藥效開始是重要的，或是有關於其不良作用，那麼受試藥品與對照藥品之 t_{max} 不應有顯著的差別。

對於狹窄治療範圍 (narrow therapeutic range) 之藥品，上述之允收條件應緊縮至90.00%至111.11%。至於什麼樣的藥品屬於「狹窄治療指數藥品 (narrow therapeutic index drugs; NTID)」，目前並沒有判斷的準則，因此就必須依個案而論。總之，當 C_{max} 對安全性很重要時，允收條件就應緊縮至90.00%至111.11%。

反過來說，對於高變異性藥品 (highly variable drug products; HVDP)，上述之允收條件就應放寬一些。所謂HVDP指的就是， C_{max} 或AUC在「個體內之變異性 (intra-subject variability)」超過30%，或個體內之對照品 C_{max} 對數值的標準差 (S_{WR}) 超過0.294。這類藥品的生體相等性試驗應執行「重複設計研究 (replicate design study)」，以顯示對照品 C_{max} 的個體內變異性超過30%。「個體內之CV%」之計算公式如下 (S_{WR} 為

個體內之對照品 C_{max} 對數值的標準差)：

$$CV (\%) = 100\sqrt{e^{S_{WR}^2} - 1}$$

研究者需注意的是，不能把離群納入計算而導致此高變異性。不過由於雙向交叉設計 (2-way crossover design) 方法需要的樣本數太大，因此美國FDA 建議採用reference-scaled average bioequivalence (RSABE) 分析方法。設計試驗時可採3-way或4-way replicated crossover design，當試驗顯示個體內對照品的變異未達高變異性標準時，仍應回來使用unscaled average bioequivalence 分析方法，並以80.00%至125.00%作為允收條件。相反地，當試驗顯示有高度個體內變異時，則根據scaled-average bioequivalence。在這種情況下，允收範圍 (acceptance range) 的上限 (upper limit; U) 和下限 (lower limit; L) 可由 S_{WR} 算出，公式如下： $[U, L] = \exp [\pm 0.76 \cdot S_{WR}]$ 。不同程度的個體內變異性，對應不同的放寬程度 (表二)；放寬程度最大可到69.84%至143.19%。若經事先申請核定，於認可安全性及有效性下並符合國際規定時， C_{max} 可視不同情況而放寬。不過，我國之《藥品生物利用度及生體相等性試驗準則》硬性規定放寬程度為0.75至1.33之間。

放寬允收條件必須謹慎而為，在試驗開始執行前就需申請核定。因此，應在計畫書裡明確定義試驗設計及統計分析方法，以便進行計畫書審查。申請者也可向衛生福利部食品藥物管理署提供相關數據資料，函詢對照藥品被證實為高變異性藥品時，是否可放寬 C_{max} 之90% CI。

結語

含有相同的主成份 (active substance) 的兩種藥品，在下列情況下可認為是具有生體相等性的：它們在藥理學上是相等的或可替代的，而且在服用相同劑量後可得到「允收之預定範圍 (acceptable predefined limits)」的生物利用度。根據這個理論，原廠藥在專利期過了之後常被學名藥所取代。一般而言，學名藥可達到原廠藥的有效性很安全性。然而，要注意的是，例外的情況並不罕見。這是因為，生體相等性試驗的理論基礎無法面面俱到，來應付每一種藥品的特殊狀況。顯然，生體相等性並不盡然等同於「治療相等性 (therapeutic equivalence)」。

參考文獻

1. 藥品生物利用度及生體相等性試驗準則 民國102年1月31日修正

表二、允收範圍與個體內變異性的關係

各體內之CV%	允收範圍的下限	允收範圍的上限
30	80.00	125.00
35	77.23	129.48
40	74.62	134.02
45	72.15	138.59
≥50	69.84	143.19