

盐酸多柔比星脂质体注射液仿制药研究技术
指导原则（试行）

二〇二〇年十月

盐酸多柔比星脂质体注射液仿制药研究技术 指导原则（试行）

一、概述

盐酸多柔比星脂质体注射液是将盐酸多柔比星包裹于脂质体内形成的特殊注射剂。

本指导原则根据采用硫酸铵梯度法制备的盐酸多柔比星脂质体注射液的制剂特点，提出仿制药开发过程中药学研究、非临床研究和生物等效性研究的技术要求，旨在为该仿制药的研发提供技术指导。

本指导原则仅代表药品监管部门目前对于本品的观点和认识。在符合现行法规的要求下，可采用替代的研究方法，建议提供详细的研究资料或与监管机构进行沟通。

二、整体研究思路

作为仿制药，应当按照国家局发布的《化学仿制药参比制剂遴选与确定程序》选择参比制剂。

盐酸多柔比星脂质体注射液为经静脉注射给药的脂质体制剂，应基于产品特征，采取逐步递进的对比研究策略，首先进行仿制药与参比制剂药理学和非临床的全面对比研究；然后进行人体生物等效性研究；必要时进行临床研究。若药理学研究和（或）非临床研究结果提示仿制药与参比制剂不一致，申请人应考虑对受试制剂处方工艺进一步优化后重新开

展研究¹。

作为注射剂仿制药，除满足仿制药注册申报的要求外，还应符合《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》、《化学药品注射剂仿制药（特殊注射剂）质量和疗效一致性评价技术要求》等。

三、技术要求

（一）药学研究

1.处方

仿制药的辅料种类和用量通常应与参比制剂（RLD）相同。辅料的用量相同是指仿制药辅料用量为参比制剂相应辅料用量的 95%—105%²。

氢化大豆磷脂酰胆碱（HSPC）、胆固醇、培化磷脂酰乙醇胺（MPEG-DSPE）是本品的关键成分，应按相关要求登记和关联，或由制剂注册申请人一并提供研究资料³。仿制药应与参比制剂选择相同来源（天然的或合成的）的脂质辅料，制定严格的内控标准，并提供研究资料证明仿制药所采用的脂质辅料与参比制剂中的脂质辅料相似（如，各组分比例）。

2.制备工艺

采用硫酸铵梯度法制备的主要步骤包括：1) 空白脂质体的制备，2) 硫酸铵梯度的形成，3) 活性药物的装载。活性药物的装载是多柔比星在脂质体内外相的硫酸铵浓度梯度

驱动下扩散到空白脂质体内完成的⁴。

本品工艺较为复杂，应提供详细的生产工艺开发研究资料和工艺验证资料（包括无菌工艺验证资料）。建议制定合理的生产过程控制策略，如关键步骤的生产时限、关键中间体的质量控制标准和保持时限等。

应特别关注生产工艺和批量对产品质量可控性的影响，注册批和商业批的生产工艺及批量原则上应保持一致⁵。

3.质量研究

仿制药应通过体外表征证明其与参比制剂关键质量属性（CQAs）一致，除注射剂一般质量属性外，还应关注以下CQAs⁹：

（1）脂质体组成：包括磷脂含量、游离的和包封的药物含量、总硫酸根和 NH_4^+ 浓度、内相中硫酸根和 NH_4^+ 浓度、组氨酸浓度和蔗糖浓度，应选择适当的方法进行研究并计算药脂比。仿制药各项指标应与参比制剂一致。

（2）包封药物的状态：药物主要以多柔比星硫酸盐沉淀的形式存在于脂质体内，应选择适当的方法进行研究（如，电镜法和 X 射线衍射法等），仿制药应与参比制剂一致。

（3）脂质体内环境：包括内相体积、内外相 pH 梯度差、内相中硫酸根和 NH_4^+ 浓度，应选择适当的方法进行研究，仿制药各项指标应与参比制剂一致。

（4）体外释放度：体外释放度是本品的重要质控指标，

应选择适当的条件和方法进行研究（如，FDA 溶出度数据库方法）⁶，仿制药应与参比制剂一致。

(5) 脂质体形态和脂膜层数：脂质体的载药量和释放度可能受脂质体形态和脂膜层数的影响，应选择适当的方法进行研究（如，电镜法等），仿制药应与参比制剂一致。

(6) 脂膜的相变温度：脂膜的相变温度影响脂质体双层膜的稳定性，应选择适当的方法进行研究（如，差示扫描量热法等），仿制药应与参比制剂一致。

(7) 粒度和粒度分布：粒度和粒度分布是本品的重要质控指标。应选择适当的方法进行研究，仿制药的粒度分布（D10、D50、D90）应与参比制剂一致；建议基于 D50 和 $SPAN[(D90-D10)/D50]$ 或多分散系数，采用群体生物等效性研究的分析方法进行粒度和粒度分布的对比（仿制药和参比制剂各选三批，每批不少于 10 瓶，每瓶平行测定不少于 3 次），仿制药与参比制剂应等效。

(8) PEG 厚度（脂质体表面 PEG 密度）：采用甲氧基聚乙二醇（MPEG）对磷脂酰乙醇胺（DSPE）进行修饰，一方面可增加脂膜的机械强度；另一方面可避免脂质体被单核吞噬细胞系统（MPS）清除，以增加其在血液中的循环时间。应选择适当的方法进行研究，仿制药应与参比制剂一致。

(9) Zeta 电位：表面电荷可维持脂质体的稳定性，同时影响脂质体的组织分布、细胞摄取和清除，应选择适当的

方法和介质进行研究，仿制药应与参比制剂一致。

(10) 多种条件下的体外泄漏：为保证肿瘤细胞的等效药物传递，应模拟体内环境条件进行药物泄漏的研究，推荐的试验条件见下表：

| 体外药物泄漏条件 | 目的 | 建议理由 |
|--|------------------------|---|
| 在 37 摄氏度、50%人血浆中 24 小时 | 评价血液循环中脂质体的稳定性 | 血浆可模拟血液情况 |
| 在 37 摄氏度，pH 值 5.5、6.5 和 7.5 缓冲液中 24 小时 | 模拟正常组织、癌细胞周围或癌细胞内药物的释放 | 正常组织：pH 值 7.3 癌组织：pH 值 6.6 癌细胞内部（内涵体和溶酶体）：pH 5-6（内涵体和溶酶体可能参与肿瘤细胞摄取脂质体和诱导药物释放） |
| 在一定温度范围内（43、47、52、57 摄氏度），在 pH 6.5 的缓冲液中 12 小时，或直至完全释放 | 评价的脂膜完整性 | 脂膜的相变温度（ T_m ）由脂质双层性质决定（如，刚性、刚度和化学组成等）。不同温度（低于或高于 T_m ）下药物释放的差异将反映脂质双层性质的细微差异。 |
| 在 37 摄氏度低频（20 kHz）超声 2 小时或直至完全释放 | 评价脂质体中药物的封装状态 | 低频超声（20 kHz）通过短暂引入孔状缺陷破坏脂质双分子层，使脂质体内的多柔比星硫酸盐沉 |

应提供各项对比研究所采用的分析方法和必要的方法学验证资料，明确评价指标、标准及确定依据。

建议采用至少三批商业化规模工艺生产的仿制品与多批参比制剂进行体外对比研究。

4.稳定性研究

应进行常规稳定性考察，并结合产品说明书开展使用中产品稳定性研究。稳定性考察指标除普通注射剂 CQAs 外，还应包括微粒制剂相关的 CQAs（如，包封药物的状态、体外释放度、脂质体形态、粒度和粒度分布、Zeta 电位等）。

应结合产品特点、稳定性、包材相容性和容器密封性等研究结果证明包材选择合理。包材相容性应参照相关指导原则进行。

（二）非临床研究

1.盐酸多柔比星脂质体注射液是一种特殊注射剂，进入体内后存在释药的过程和体液成分的吸附等，因此仿制药与参比制剂处方和工艺的差异可能导致药物体内药代动力学行为发生改变，从而带来有效性和安全性的变化，建议在临床试验前开展仿制药与参比制剂比较的药代动力学研究，充分提示仿制药与参比制剂在药代动力学行为的一致性。

通常选择非啮齿类动物进行药代动力学比较研究。采用拟定临床剂量和给药途径，设置参比制剂组，测定血浆中总

多柔比星含量和游离的多柔比星浓度, 获得 $t_{1/2}$ 、 C_{max} 、AUC、 V_z 、Cl、MRT 等主要药代参数的比较研究结果。鉴于通常只有释放药物才能在体内发挥活性, 在进行血药浓度测定时需分别考察结合型药物和释放药物的暴露量。

2. 采用荷瘤动物开展组织分布的比较研究, 剂量通常设置为有效剂量, 至少测定给药后血液、肿瘤组织、心脏和内质网较为丰富的组织 (如肝、肾) 的药物浓度, 比较正常组织和肿瘤组织与血液中的多柔比星药物暴露量及其比值的差异, 同时设置参比制剂组, 比较仿制药与参比制剂在体内主要组织分布的差异。

3. 开展制剂安全性试验, 并与参比制剂比较。

(三) 人体生物等效性研究^{1,7,8,9,10}

研究类型: 以药代动力学 (PK) 为终点的生物等效性研究, 空腹试验。如果病人的健康状况不允许禁食, 申办者可在研究期间提供非高脂餐, 或可在标准 (非高脂餐) 早餐 2 小时后开始治疗。

研究设计: 通常推荐采用单次给药、随机、交叉研究设计。

受试者: 适合本品单药治疗的肿瘤患者。

注意事项:

a. 应使用商业批的样品进行关键的生物等效性研究。

b. 该研究将在安排患者接受常规治疗的两天内进行，两个研究周期不得改变治疗方案。

c. 由于本品的心脏毒性，应在基线时记录患者的心脏状态。

d. 在研究过程中，患者的体重改变导致给药剂量改变达到 $\pm 5\%$ 者，必须停止该患者的研究，并且该受试者的数据不纳入最终 BES 进行生物等效性分析。

e. 在仿制药生物等效性研究的两个周期中，合并用药应尽可能保持一致。若因不良事件的治疗需要，确需用药导致两周期间合并用药不一致，应提供充分证据证明合并用药对研究制剂药代动力学行为不产生影响，否则该周期数据不纳入最终 BES 进行生物等效性分析。

排除标准：

a. 经过 4 个疗程多柔比星治疗的患者，多柔比星总暴露达到 $550\text{mg}/\text{m}^2$ 或更多。

- b. 肝功能明显受损的患者。
- c. 对盐酸多柔比星处方成分或 RLD 处方成分有过敏史的患者。
- d. 妊娠期和哺乳期的女性患者。
- e. 年龄小于 18 岁或大于 75 周岁的患者。
- f. 具有需要全身用药的持续或活动性感染者。
- g. 有严重的心脏、肝脏或肾脏疾病的患者。

检测物质：在适当的生物体液中游离的（非包封的）多柔比星和脂质体包封的多柔比星。

生物等效性评价指标：主要评价指标应提供包括受试制剂和参比制剂游离的和脂质体包封的多柔比星的 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 C_{max} ，需提供相应几何均值、几何均值比值及其 90% 置信区间。建议增加脂质体包封的多柔比星的部分暴露量指标（如 AUC_{0-48h} 和 $AUC_{48h-last}$ ）作为次要评价指标，同样进行 90% 置信区间考察。

生物等效的接受标准 (90% CI)：游离的和脂质体包封的多柔比星的 AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 C_{max} 几何均值比值的 90% 置信区间数值应不低于 80.00%，且不超过 125.00%。对于脂质体包封的多柔比星的部分暴露量指标（如 AUC_{0-48h} 和 AUC_{48h-

last) , 若等效性结论与主要评价指标的不一致, 需充分分析原因以及对临床用药安全有效性的影响。

其他: 注册申报时, 除了上述药代动力学参数之外, 还需提供其他全面的药代动力学参数的个体和平均值, 包括但不限于达峰时间、消除半衰期、清除率、表观分布容积等。

四、参考文献

1.国家药品监督管理局药品审评中心. 《化学药品注射剂(特殊注射剂)仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》(2020年5月)

2.国家药品监督管理局药品审评中心. 《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》(2020年5月)

3.《国家药监局关于进一步完善药品关联审评审批和监管工作有关事宜的公告》(2019年第56号)

4.A. Gabizon, H. Sheemda, Y. Barenholz. Pharmacokinetics of pegylated liposome doxorubicin: review of animal and human studies. Clin Pharmacokinet 42(5): 419-436 (2003)

5.国家药品监督管理局药品审评中心. 《化学仿制药注册批生产规模的一般性要求(试行)》(2018年6月)

6. FDA-Recommended Dissolution Methods Web site,

<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolutio>

n/.

7. (原) 国家食品药品监督管理总局. 《以药动学参数为终点评价指标的化学药物仿制药人体生物等效性研究技术指导原则》(2016年第61号通告)

8. 国家药品监督管理局药品审评中心. 《生物等效性研究的统计学指导原则》(2018年10月)

9. Food and Drug Administration. Draft Guidance on Doxorubicin Hydrochloride. Recommended Feb 2010; Revised Nov 2013, Dec 2014, Apr 2017, Sept 2018

10. European Medicines Agency. Pegylated liposomal doxorubicin hydrochloride concentrate for solution 2 mg/ml product-specific bioequivalence guidance. 1 July 2019, EMA/CHMP/800775/2017