



国家药品监督管理局药品审评中心

CENTER FOR DRUG EVALUATION, NMPA
CENTRE FOR DRUG EVALUATION, NMPA

此页面上的内容需要较新版本的 Adobe Flash Player。



当前位置：新闻中心>>工作动态>>通知公告>>新闻正文

国家药监局药审中心关于发布《药物相互作用研究技术指导原则（试行）》的通告（2021年第4号）

发布日期：20210126

为进一步鼓励和引导申请人高效规范地开展药物相互作用研究工作，药审中心组织制定了《药物相互作用研究技术指导原则（试行）》（见附件）。根据《国家药监局综合司关于印发药品技术指导原则发布程序的通知》（药监综药管〔2020〕9号）要求，经国家药品监督管理局审查同意，现予发布，自发布之日起施行。

特此通告。

国家药品监督管理局药品审评中心

2021年1月25日

附件 1：

药物相互作用研究技术指导原则（试行）.pdf

Copyright © 国家药品监督管理局药品审评中心 All Right Reserved.

地址：中国 北京市朝阳区建国路128号 邮编：100022

总机：8610-68585566 传真：8610-68584189 备案序号：京ICP备09013725号

药物相互作用研究技术指导原则

（ 试行 ）

2021年1月

目录

一、概述.....	1
二、药物相互作用体外研究	3
(一) 研究的主要内容.....	3
(二) 代谢酶介导的药物相互作用	3
(三) 转运体介导的药物相互作用	10
(四) 代谢产物的相互作用.....	17
三、药物相互作用临床研究	19
(一) 药物相互作用临床研究类型	19
(二) 前瞻性临床药物相互作用研究	21
(三) 前瞻性嵌套临床相互作用研究	28
(四) 临床试验模拟研究.....	28
(五) 其他临床研究设计考虑问题	29
(六) DDI 临床研究结果的报告和解释	32
四、说明书起草建议	38
五、名词解释.....	38
六、参考文献.....	40
七、附录.....	41

药物相互作用研究技术指导原则（试行）

一、概述

在临床应用中患者经常会同时使用多种药物，这些药物可能会产生药物-药物相互作用（Drug-drug interaction, DDI, 简称药物相互作用），有可能导致严重不良反应或改变治疗效果。因此，有必要对 DDI 发生的可能性和严重性及其影响程度进行科学评估，依据评估结果调整给药方案，并在说明书中对临床用药给出建议。药物相互作用按照发生机制可分为理化性质、代谢酶、转运体、靶点或疾病介导的相互作用，按照作用影响指标可分为药代动力学和药效动力学相互作用。

在药物开发过程中，对药物相互作用的评价需要逐步积累基础研究数据，并根据情况进行综合评价。DDI 整体研究应兼具计划性和系统性，一般包括体外试验和临床试验两部分。

体外试验可用于评估药物药代动力学相互作用的可能机制及影响程度，也有助于构建模型对潜在的 DDI 进行预测，以支持 DDI 临床研究设计以及整体研究策略的制定。

DDI 临床试验是为了确认体内是否会发生 DDI 及其严重程度。如果在研药物的开发旨在与其他药物合用（如复方制剂、联合用药等），原则上应开展拟合用药物的 DDI 研究。

DDI 的主要研究内容包括但不限于：在研药物是否可改变其它药物的药代动力学特征；其它药物是否可改变在研药物的药代动力学特征；评估药代动力学参数的变化程度；评估在研药物 DDI 的临床意义；临床严重 DDI 的防控策略。

应在患者同时使用在研药物和可能与之发生相互作用的合用药物之前对潜在的 DDI 进行评价，并依据评价结果科学制订患者临床试验的合并用药策略、入排标准或相应的剂量调整策略，以充分预防患者因合并用药而导致不必要的安全性风险，或预防潜在的疗效下降。DDI 研究不充分，可能会妨碍对在研药物获益及风险的评估，并可能会导致上市药品说明书中应用范围受限制和/或将上市许可推迟到获得充足的 DDI 信息之后。

本指导原则主要为基于药代动力学的 DDI 研究提供一般研究方法、常见评价指标和研究结果解读的通用指导。在进行 DDI 研究时，应按照在研药物的性质和代谢特征选择适当的研究方法。必要时，也可以采用本指导原则描述方法以外的研究方法进行 DDI 评估，保障临床开发和用药安全。

本指导原则主要适用于化学药品，生物制品和中药、天然药物可参照执行。本指导原则仅代表药品监管部门当前的观点和认识，供研发企业参考，不具有强制性的法律约束力，随着科学研究的进展，相关内容将不断完善与更新。

二、药物相互作用体外研究

（一）研究的主要内容

DDI 评估通常从体外试验开始，确定可能影响药物处置的因素以阐明潜在的 DDI 机制，并获得用于进一步研究的动力学参数，其主要内容包括：确定药物的主要消除途径；评估相关代谢酶和转运体对药物处置的贡献；考察药物对代谢酶和转运体的影响。

基于体外试验结果和临床药动学研究数据可采用模型法预测潜在的临床 DDI。DDI 的预测模型包括基础模型、静态机制模型和动态机制模型（如 PBPK 模型, Physiologically-based pharmacokinetic model）。可参考附录（一）和（二）的代谢酶和转运体介导的 DDI 研究策略图及附录（三）选用相应模型，决定何时以及如何进行临床 DDI 研究。有关评估用于药物 DDI 的体外试验的一般注意事项，请参阅附录（四）和（五）。

（二）代谢酶介导的药物相互作用

药物代谢主要发生在肝脏和肠道。其中肝脏代谢主要由位于肝细胞滑面内质网的细胞色素 P450（Cytochrome P450, CYP）酶系催化，也可通过非 CYP 酶催化（如 II 相代谢酶）。应在首次人体试验之前，开展体外代谢试验评估代谢酶与在研药物之间相互作用的可能性，为临床 PK 研究设计提供参考。

1. 评估在研药物是否为代谢酶的底物

1.1 研究内容

通常采用体外代谢表型试验考察主要的 CYP 同工酶 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A 是否可以代谢在研药物。若在研药物在体内或体外非上述主要 CYP 酶代谢，则应确定其他酶对其代谢的贡献。其他酶主要包括但不限于以下代谢酶：

CYP 同工酶：CYP2A6、CYP2J2、CYP4F2 和 CYP2E1；

I 相代谢酶：单胺氧化酶（Monoamine oxidase, MAO）、黄素单加氧酶（Flavin monooxygenase, FMO）、黄嘌呤氧化酶（Xanthine oxidase, XO）、醇/醛脱氢酶（Alcohol/Aldehyde dehydrogenase, ADH/ALDH）和醛氧化酶（Aldehyde oxidase, AO）；羧酸酯酶（Carboxyl esterase, CES）；

II 相代谢酶：尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶（Uridine diphosphate glucuronosyl transferases, UGTs）和硫酸转移酶（Sulfotransferases, SULTs）。

1.2 数据分析

若基于体外代谢表型研究和人体药动学研究数据，特定代谢酶对药物的总消除贡献 $\geq 25\%$ ，则可认为该酶对在研药物的清除有显著贡献。此时，应使用该代谢酶的强指针抑制剂和/或诱导剂进行 DDI 临床研究。

2. 评估在研药物是否为代谢酶的抑制剂

2.1 研究内容

应评估在研药物是否会对主要的 CYP 同工酶 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 和 CYP3A 产生可逆性抑制和时间依赖性抑制（Time-dependent inhibition, TDI）。

2.2 数据分析

对于可逆性抑制的基础模型，应计算存在和不存在在研药物时指针底物的固有清除率的比值 R_1 （图 1）。对于 CYP3A， $R_{1, gut}$ 也应按图 1 所示进行计算。

对于时间依赖性抑制的基础模型，应计算 R_2 （图 2）。

图 1 可逆性抑制基础模型中 R 值的计算公式

$$R_1 = 1 + (I_{max,u}/K_{i,u})$$

$$R_{1,gut} = 1 + (I_{gut}/K_{i,u})$$

$I_{max,u}$: 在研药物的稳态最大游离血浆浓度；*

I_{gut} : 在研药物的肠腔内浓度（即给药剂量/250 mL）；

$K_{i,u}$: 体外测定的游离抑制常数。

注意：I 和 K_i 需要以相同的单位表示（如以摩尔浓度为单位）。

*考虑到蛋白结合测定的不确定性，如果试验测定结果<1%，则血浆中游离的部分应设定为 1%（血浆中游离的部分（ $f_{u,p}$ ）=0.01）。

图 2 TDI 基础模型中 R 值的计算公式

$$R_2 = (k_{obs} + k_{deg})/k_{deg}$$

$$k_{obs} = (k_{inact} \times 50 \times I_{max,u})/(K_{I,u} + 50 \times I_{max,u})$$

k_{obs} : 受影响酶的表现一级失活速率常数；

k_{deg} : 受影响酶的表现一级降解速率常数；

$K_{I,u}$: 导致半数最大失活的游离抑制剂浓度；

k_{inact} : 最大失活速率常数；

$I_{max,u}$: 抑制剂的稳态下最大游离血浆浓度；

注意：I 和 K_i 需要以相同的单位表示（如以摩尔浓度为单位）。

*考虑到蛋白结合测定的不确定性，如果试验测定结果<1%，则血浆中游离的部分应设定为 1%（血浆中游离的部分（ $f_{u,p}$ ）= 0.01）。

如果 $R_1 \geq 1.02$, $R_2 \geq 1.25$ 或 $R_{1, \text{gut}} \geq 11$, 则应采用机制模型或开展使用敏感指针底物的临床 DDI 研究进一步确认潜在的药物相互作用。如果根据静态或动态机制模型（如 PBPK 模型）预测存在和不存在存在在研药物时, 敏感指针底物的 AUC 比值 (AUCR) ≥ 1.25 , 则应使用敏感指针底物开展临床 DDI 研究。

当静态机制模型或 PBPK 模型用于预测由酶抑制引起的 DDI 时, 模型应仅包括抑制机制（即不应同时包括诱导和抑制两种机制）来评估在研药物抑制代谢酶的风险。

3. 评估在研药物是否为代谢酶的诱导剂

3.1 研究内容

应评估在研药物是否会诱导主要的 CYP 同工酶 CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 或 CYP3A4。研究初期, 可只评估 CYP1A2, CYP2B6 和 CYP3A4。因对 CYP3A4 和 CYP2C 的诱导作用都需要激活孕烷 X 受体 (Pregnane X receptor, PXR), 若体外试验未见对 CYP3A4 酶的诱导, 则可不必要再评价对 CYP2C 酶的诱导作用。若在研药物体外研究结果显示可以诱导 CYP3A4, 且结果提示应进一步开展临床试验, 则需评估其诱导 CYP2C 的可能性。但如果使用 CYP3A 敏感底物的临床试验结果为阴性, 且在研药物及其代谢产物对 CYP3A4 未见抑制作用, 则可排除在研药物对 CYP2C 诱导的可能性。

3.2 数据分析

至少采用三个供体，每个供体的诱导结果应单独评估。如果至少一个供体的结果超过了预定的阈值，则在研药物可能具有诱导作用，需进行后续评估。评估在研药物对代谢酶潜在诱导作用的方法主要有以下三种：

倍数变化方法 (Fold-change method)：采用由已知的阳性和阴性对照药物校准的体外系统，在研药物孵育后，测定 CYP 酶的 mRNA 表达水平倍数变化，以评估在研药物是否为酶的诱导剂。如与溶剂对照相比，如果在研药物在预期肝浓度下，CYP 酶的 mRNA 变化倍数 ≥ 2 倍且呈现浓度依赖性增加，则认为具有潜在的诱导作用；如果 mRNA 变化倍数 < 2 倍，但增加比例 $>$ 阳性对照药物增加比例的 20%，则不能排除对酶诱导的可能性，建议进一步试验确认。

用于计算相对阳性对照增加比例的公式为： $\% \text{ 阳性对照药物} = (\text{在研药物处理后的细胞 mRNA 增加倍数} - 1) \times 100 / (\text{阳性对照药物处理后的细胞 mRNA 增加倍数} - 1)$ 。肝预期药物浓度可以通过假设一定倍数的 $I_{\max, u}$ 来计算（如治疗剂量下平均最大稳态游离血药浓度的 30 倍）。

相关性方法 (Correlation methods)：根据同一酶的一组已知诱导剂的诱导得分 (RIS) 或 $I_{\max, u}/EC_{50}$ 的校准曲线，预测在研药物临床诱导作用的程度（如在存在和不存在诱导剂时，指针底物的 AUCR），如图 3 所示。如果 $AUCR \leq 0.8$ ，则认为该药物在体内具有潜在的诱

导作用。有时由于在研药溶解度或细胞毒等情况所限， $E_{\max}$ 或 EC_{50} 难以确定，则可采用其它的经过验证的相关性方法。

图 3 评估在研药物对代谢酶具有潜在诱导作用的两种相关性计算方法

相关性方法 1: 使用 $(E_{\max} \times I_{\max,u}) / (EC_{50} + I_{\max,u})$ 计算相对诱导得分 (RIS)

相关性方法 2: 计算 $I_{\max,u} / EC_{50}$ 值

$E_{\max}$: 体外测定的最大诱导效应;

EC_{50} : 体外半数最大诱导效应的浓度;

$I_{\max,u}$: 在研药物稳态最大游离血浆浓度。*

*考虑到蛋白结合测定的不确定性，如果试验测定结果 $<1\%$ ，则血浆中游离的部分应设定为 1% (血浆中游离的部分 ($f_{u,p}$) = 0.01)。

基础动力学模型：根据图 4 所示计算 R_3 值并和预先设定的临界值作比较，如 $R_3 \leq 0.8$ 可能提示在研药物在体内具有潜在的诱导作用。

图 4 诱导基础模型中 R 值的计算公式

$$R_3 = 1 / [1 + (d \times E_{\max} \times 10 \times I_{\max,u}) / (EC_{50} + (10 \times I_{\max,u}))]$$

R_3 : 在有和无诱导剂时对指针底物某一代谢途径固有清除率的预测比值;

d : 比例因子，通常默认为 1，除非先前使用此体系时的研究数据可以帮助校正;

$E_{\max}$: 体外测定的最大诱导效应;

$I_{\max,u}$: 在研药物稳态最大游离血浆浓度; *

EC_{50} : 体外半数最大效应的浓度。

*考虑到蛋白结合测定的不确定性，如果试验测定结果 $<1\%$ ，则血浆中游离的部分应设定为 1% (血浆中游离的部分 ($f_{u,p}$) = 0.01)。

如果上述方法提示在研药物对代谢酶具有潜在的诱导作用 (使用上述或由不同实验室针对这些方法开发的特定临界值)，则应使用机制模型或敏感的指针底物进行临床 DDI 研究，以进一步研究在研药物对代谢酶的诱导作用。在有和无在研药物的情况下，如果根据静态或动态机制模型 (如 PBPK 模型) 得到敏感指针底物的预测

AUCR $\leq$ 0.8，则应使用敏感指针底物进行临床 DDI 研究以进一步考察潜在的药物相互作用。

当静态机制模型或 PBPK 模型用于预测由酶诱导引起的 DDI 时，模型应仅包括诱导机制（即不应同时包括诱导和抑制两种机制）来评估在研药物诱导代谢酶的风险。

3.3 其他注意事项

当评估在研药物是否是多种 CYP 酶的抑制剂时，可根据 R_1 、 R_2 的排序或预测的 AUCR 值（最好使用在同一研究中获得的体外抑制参数），对相应途径的敏感指针底物的 CYP 酶的体内 DDI 研究进行优先排序，即：可首先使用具有最大 R 或 AUCR 值的 CYP 酶敏感指针底物进行体内研究。如果该体内研究的结果未显示相互作用，则无需再进行具有较低效力（如较小的 R 或 AUCR）的体内其他 CYP 酶的评估。但若该体内研究的结果显示药物与敏感指针底物之间存在相互作用，则应对其他 CYP 酶作进一步的体内研究，且应先从具有第二大 R 或 AUCR 值的 CYP 酶开始。或可使用 PBPK 模型来决策是否进行其他研究，此时应使用临床数据充分验证该 PBPK 模型，以证明该模型能够恰当描述第一次使用敏感指针底物的临床研究结果。如果在研药物能产生有抑制作用的代谢产物，当进行体内试验设计时，应该考虑其贡献及代谢产物 R 值的排序。

可以考虑采用静态或动态机制模型同时预测诱导和抑制作用，以预测在研药物作为促变药的净效应。但两种机制同时预测存在一

定缺陷，若抑制作用被过度预测，则可能掩盖诱导效应而导致总体效应预测的假阴性；若潜在诱导作用被过度预测，则将掩盖抑制作用，需审慎对待该结果。

体外诱导试验也可能检测到代谢酶的下调。但对这方面的研究有限，相应的机理尚不清楚。如果体外试验观察到浓度依赖性下调，且与细胞毒性无关，则可能需要进行额外的体外或体内试验来了解潜在的临床后果。

（三）转运体介导的药物相互作用

转运体在人体全身组织中均有表达，通过影响药物的吸收、分布和消除而影响药物的药代动力学和药效学特征。转运体与代谢酶协同作用可以影响药物的处置和药理作用。药物也可以影响转运体的表达或活性，从而导致内源性（如肌酐、葡萄糖）或外源性物质的处置发生改变。

以下为临床应用中一些与药物相互作用有关的转运体：

P-糖蛋白（P-glycoprotein, P-gp 或多药耐药蛋白 1, Multi-drug resistance 1 protein, MDR1）；

乳腺癌耐药蛋白（Breast cancer resistance protein, BCRP）；

有机阴离子转运多肽（Organic anion transporting polypeptide, OATP）1B1/1B3；

有机阴离子转运体（Organic anion transporter, OAT）1/3；

多药及毒性化合物外排转运体（Multidrug and toxin extrusion proteins, MATEs）1/2-K;

有机阳离子转运体（Organic cation transporter, OCT）2。

应评估在研药物与上述转运体之间的相互作用。每个转运体体外评估的时机可能因在研药物的适应症/目标人群而异（如：若目标人群可能使用他汀类药物，则应在开始对患者进行的临床研究前评估在研药物与 OATP1B1/1B3 是否存在潜在的相互作用；若体外试验提示转运体与在研药物相互作用的可能性较低，则可将服用他汀类药物的受试者纳入临床研究中，以更好地代表目标患者群体）。

1.评估在研药物是否为转运体的底物

1.1 评估在研药物是否为 P-gp 和 BCRP 的底物

P-gp 和 BCRP 在多种组织中表达（如胃肠道，肝，肾和脑等），有可能影响药物的口服生物利用度、组织分布以及肝脏和肾脏对底物的清除。

研究内容：应通过体外研究评估在研药物是否为 P-gp 和 BCRP 的底物。P-gp 和 BCRP 不影响高渗透性和高溶解度药物的口服生物利用度，除非其分布到某些组织中会存在安全性风险（如肾和大脑），否则无需考察此类药物是否为 P-gp 和 BCRP 的底物。

数据分析：以下结果提示在研药物可能是 P-gp 的底物：①在表达 P-gp 的细胞（如 Caco-2 细胞或过表达 P-gp 的转染细胞）中的外排率（efflux ratio, ER）或净外排率（net ER） ≥ 2 ；②已知的 P-gp

抑制剂在高于其 K_i 或者 IC_{50} 至少 10 倍的浓度下可使药物的 ER 值下降 50% 以上。

若采用表达多种外排转运体的 Caco-2 细胞，则应使用两种或两种以上 P-gp 抑制剂来确定外排的特异性。如果已有对细胞系统的研究经验证明使用并非 2 的净外排率比值或者与阳性对照的特定比值也可合理评价 P-gp 的底物可能性，则可以使用该外排率作为阳性对照进行评价。

如果体外研究表明药物是 P-gp 的底物，则应该根据药物的安全窗、治疗指数以及特定患者人群可能合用的药物（已知的 P-gp 抑制剂）等因素来考虑是否开展体内研究。

也可以根据上述方法，使用已知的 BCRP 抑制剂，确定该药物是否为 BCRP 的底物。如果体外研究表明药物是 BCRP 的底物，则应根据药物的安全窗、治疗指数以及特定患者人群可能合用的药物（已知的 BCRP 抑制剂）等因素来考虑是否进行体内研究。

1.2 评估在研药物是否为 OATP1B1 和 OATP1B3 的底物

OATP1B1 和 OATP1B3 是肝细胞窦状隙膜上表达的主要摄取转运体，在多种药物的肝脏摄取中发挥重要作用。

研究内容：如果体外研究或人/动物的吸收、分布、代谢和/或排泄数据表明在研药物存在明显的肝摄取或者消除（如通过肝脏代谢或胆汁分泌的药物清除率 $\geq$ 药物总清除率的 25%），或者药物的肝摄取具有重要临床意义（如发生代谢或产生药理作用），应进行体外研

究以确定该药物是否为肝脏摄取转运体 OATP1B1 和 OATP1B3 的底物。

数据分析: 以下情况提示在研药物可能是 OATP1B1 或 OATP1B3 的底物: ①对 OATP1B1 或者 OATP1B3 转染细胞, 其药物的摄取至少是空白载体转染细胞的 2 倍及以上; ②已知的抑制剂能够在高于其 K_i 或者 IC_{50} 至少 10 倍的浓度下, 使药物的摄取降至 50% 以下; 也可以基于既往经验来阐明采用其他临界值的合理性。

如果体外研究表明在研药物是 OATP1B1 或 OATP1B3 的底物, 则应该根据药物的安全窗、治疗指数以及特定患者人群可能合用的药物 (已知的 OATP1B1 或 OATP1B3 抑制剂) 等因素来考虑是否进行体内研究。

1.3 评估在研药物是否为 OAT、OCT、MATE 的底物

OAT1、OAT3 和 OCT2 在肾脏近曲小管基底膜上表达, MATE1 和 MATE2-K 在刷状缘膜上表达, 这些肾脏转运体都可能对在研药肾脏主动分泌中发挥作用。

研究内容: 如果体内代谢的相关数据表明在研药物存在明显的肾主动分泌清除 (如原形药的肾主动分泌清除率 $\geq$ 药物总清除率的 25%), 则应进行体外评估, 以确定该药物是否是转运体 OAT1/3、OCT2、MATE1 和 MATE2-K 的底物。有关主动分泌的计算公式见图 5。

图 5 主动分泌的计算公式

$$\text{肾主动分泌清除率} = \text{CL}_r - (f_{u,p} \times \text{GFR})$$

CL_r : 肾脏清除率; $f_{u,p}$: 血浆中药物游离分数; GFR : 肾小球滤过率。

*此公式的假设是无重吸收（即无主动重吸收，或者被动重吸收清除率等于被动分泌清除率）。若受试者未测定 GFR ，则 GFR 默认为 125 mL/min。

数据分析：以下情况提示在研药物可能是上述肾转运体的底物：

①在转染细胞中的摄取率是对照细胞（或含有空白载体的细胞）的 2 倍及以上；②已知抑制剂能够在高于其 K_i 或者 IC_{50} 至少 10 倍的浓度下，使药物的摄取降低至 50% 以下；也可以基于既往经验来阐明采用其他临界值的合理性。

如果体外研究提示在研药物是一个或者多个肾脏转运体的底物，则应根据在研药物的安全窗、治疗指数以及特定患者人群可能合用的药物（已知的上述肾转运体抑制剂）等因素考虑是否需要开展体内研究。

2. 评估在研药物是否为转运体的抑制剂

2.1 研究内容

考察在研药物是否是 P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OCT2、MATEs（MATE1 和 MATE2-K）、OAT1 和 OAT3 的抑制剂。

2.2 数据分析

P-gp 和 BCRP：采用 Caco-2 或过表达相应转运体的细胞考察在研药物是否会抑制已知 P-gp 或 BCRP 底物的外排率或净外排率，也可用膜囊泡考察其对底物摄取的抑制能力（如 IC_{50} 或 K_i ）。当口服给

药且 I_{gut}/IC_{50} (或 K_i) ≥ 10 (I_{gut} =抑制剂剂量/250 mL) 时, 在研药物可能在体内抑制 P-gp 或 BCRP。如果药物的代谢产物是转运体抑制剂或者在研药物经胃肠道外给药, 若 I_1/IC_{50} (或 K_i) ≥ 0.1 (I_1 是代谢产物或者在研药物的 C_{max}), 提示可能发生 P-gp 或 BCRP 的体内抑制。临界值基于有限数据设定。如果可用已知的抑制剂和非抑制剂对实验室内部体外系统进行校正, 经过合理论证后也可以建议不同的临界值。

如果体外研究表明在研药物是 P-gp 或者 BCRP 的抑制剂, 则应根据特定患者人群可能合用的药物 (已知的 P-gp 或者 BCRP 的底物), 考虑是否进行体内研究。

OATP1B1 和 OATP1B3: 采用过表达相应转运体的细胞考察在研药物对已知的 OATP1B1 或 OATP1B3 底物摄取的抑制能力 (如 IC_{50} 或 K_i)。由于某些 OATP1B1/3 的抑制剂存在时间依赖性抑制, 可能需要考虑进行预孵育后再测定 IC_{50} 值。如果 R 值 ≥ 1.1 (图 6), 则在研药物可能在体内抑制 OATP1B1/3, 该临界值基于有限的文献数据设定。如果用已知的抑制剂和非抑制剂对其内部体外系统进行校正, 经过合理的论证后也可以建议不同的临界值。

如果体外研究结果提示在研药物是 OATP1B1 或 OATP1B3 抑制剂, 则应根据在研药物目标患者人群可能合用的药物 (已知的 OATP1B1 或 OATP1B3 底物), 考虑是否进行临床研究。

图 6 确定在研药物对 OATP1B1/3*的潜在抑制作用的 R 值计算公式

$$R = \left(1 + \frac{f_{u,p} \times I_{in,max}}{IC_{50}} \right) \geq 1.1$$

$f_{u,p}$: 药物血浆中游离分数;

IC_{50} : 半数最大抑制浓度 (游离药物);

$I_{in,max}$: 进入肝门静脉处估算的血浆中抑制剂的最大浓度, 其计算公式为:

$$I_{in,max} = I_{max} + \frac{F_a \times F_g \times k_a \times Dose}{Q_h \times R_B}$$

F_a : 吸收分数;

F_g : 被小肠吸收且未经肠代谢的药物分数;

k_a : 吸收速率常数;

Q_h : 肝脏血流量;

R_B : 全血-血浆浓度比值。

*如果未测定 F_a 、 F_g 、 k_a 值, 可以用 $F_a=1$ 、 $F_g=1$ 和 $k_a=0.1/\text{min}$ 做近似估算。

考虑到蛋白结合率测量的不确定性, 当测得的蛋白结合率小于 1% 时, 游离部分 ($f_{u,p}$) 应当视为 1%。

OAT、OCT、MATE: 采用过表达相应转运体的细胞考察在研药物对已知的 OAT、OCT、MATE1/MATE2-K 底物摄取的抑制能力 (如 IC_{50} 或 K_i)。如果 OAT1/OAT3/OCT2/MATEs 的 $I_{max,u}/IC_{50} \geq 0.1$, 则在研药物可能在体内抑制这些转运体。临界值基于有限数据设定。如果可用已知的抑制剂和非抑制剂对其内部体外系统进行校正, 经过合理的论证后也可以建议不同的临界值。肌酐也是 OCT2、MATEs 和 OAT2 的底物。在临床研究中, 在研药物抑制这些转运体后可能会导致血清肌酐水平升高, 若要探索其升高机制, 则需进一步研究 (如临床研究机制)。

如果体外试验提示在研药物是上述肾转运体的抑制剂, 则应根据特定患者人群可能合用的药物 (已知的肾转运体底物), 考虑是否进行体内试验。

3.评估在研药物是否为转运体的诱导剂

某些转运体（如 P-gp）通过类似于 CYP 酶诱导的机制来发挥诱导作用（如激活特定的核受体）。鉴于这些相似性，CYP3A 诱导作用的研究结果可为 P-gp 诱导作用的研究提供一定的参考。但目前尚无完善的体外方法用于评估 P-gp 和其他转运体的诱导作用，因此本指导原则对其体外评估方法未提供相关建议。

（四）代谢产物的相互作用

可采用风险评估法，综合安全窗、可能合用的药物及适应症等因素，评价代谢产物可能产生的 DDI 对药物安全性和疗效的影响。

体内暴露量高或药理活性显著的代谢产物可能需要评估其发生代谢酶或转运体介导的 DDI 的风险。体外试验通常使用合成或纯化的代谢产物对照品。若能证明其他方法可充分评价代谢产物的 DDI 风险，则也可接受。如果基础模型提示代谢产物可能参与体内 DDI，且采用静态或动态机制模型（如 PBPK）对在研药物的 DDI 进行评估，则这些模型也应包括代谢产物。

某些 II 相代谢产物可能是多种转运体更敏感的底物（比原形药极性更大）或抑制剂，发生 DDI 的几率高于原形药。因此，评估代谢产物作为主要转运体底物或促变药的 DDI 风险，应具体问题具体分析。

1.代谢产物是否为代谢酶或转运体的底物

如果代谢产物暴露水平的变化可能导致临床疗效或安全性的改变，则应研究通过改变代谢产物形成或消除而产生的与临床相关的 DDI 的风险。

当代谢产物作为底物时，应评估总药理活性贡献 $\geq 50\%$ 的代谢产物的 DDI 风险。在评估代谢产物对药理活性的贡献时，需同时考虑其体外受体效价和体内相对于原形药游离部分的全身暴露（以摩尔单位表示）。如果原形药和代谢产物的血浆蛋白结合率高，最好在同一个系统测定其蛋白结合率，以减少研究间的变异性。如有原形药和代谢产物的靶组织分布数据，在评估代谢产物对受体效价的贡献时也需要综合考虑。

2. 代谢产物是否为代谢酶或者转运体的抑制剂

通常情况下，代谢产物的体内抑制风险与原形药在体内已同时进行评估，除非体内 DDI 研究中代谢产物的临床暴露不足（如在研究持续时间内代谢产物量积累不足）。

因此，如果体外研究显示原形药对主要的 CYP 酶和转运体有抑制作用，且有必要进行体内 DDI 研究，则可能无需进行代谢产物是否为酶或转运体的抑制剂的体外评估。但若体外评估表明单独的原形药对主要 CYP 酶或转运体未见抑制作用，代谢产物仍有可能引发体内 DDI，此时，应结合代谢产物相对于原形药的系统暴露量（以摩尔单位表示）和极性（如实测或预测的 LogP、代谢产物相对于原

形药在反相高效液相色谱图上的洗脱顺序等), 采用体外试验评估代谢产物对 CYP 酶或转运体的潜在抑制作用。

若存在下述情况, 则需要评估代谢产物是否为代谢酶或者转运体的抑制剂: ①代谢产物极性比原形药小, 且 $AUC_{\text{代谢产物}} \geq AUC_{\text{原形药}}$ 的 25%; ②代谢产物极性比原形药大, 且 $AUC_{\text{代谢产物}} \geq AUC_{\text{原形药}}$ 。如果代谢产物具有可能引起 TDI 的预警结构, 应采用比以上判断标准更低的 AUC 比例。

3. 评估方法

根据体外 DDI 研究结果, 采用与原形药相同的评价原则和策略对代谢产物进行体内 DDI 研究。

三、药物相互作用临床研究

(一) 药物相互作用临床研究类型

根据临床研究设计, 分为前瞻性和回顾性 DDI 临床试验。依据研究方法可分为基于指针药物 (Index drug) 的 DDI 研究、基于临床常见合并用药品种的 DDI 研究和 DDI 临床试验模拟研究。

1. 前瞻性和回顾性 DDI 临床试验

前瞻性 DDI 临床试验是特地为评价 DDI 而设计的, 可以是独立的研究, 也可以是大规模临床试验中的一部分嵌套临床试验 (Nested Study), 或者是扩大队列临床试验中的一个扩展试验 (Expansion cohort)。回顾性 DDI 临床试验的研究目的并不单纯是药物相互作用,

所以通常不能为药物相互作用提供足够的评价证据。通常需要基于为 DDI 专门设计的前瞻性研究结果进行监管决策。

2. 指针药物 DDI 研究

针对特定代谢酶或转运体介导的相互作用，以特定酶/转运体的特异性抑制剂和诱导剂或敏感性底物为指针药物（详见附录），评价在研药物与指针药物合并使用时的药动学特征改变情况，以获得代谢酶或转运体与在研药物的相互作用特征，进而指导临床合并用药时的剂量方案调整。

3. 临床合并用药的 DDI 研究

对于非常见代谢酶或转运体介导，但在临床治疗时常常需要联合使用的药物（如与治疗糖尿病的二甲双胍），也需要评价该药物与在研药物的药代动力学及可能的药效动力学甚至安全性的相互影响，从而指导临床合并用药时的给药方案调整。该研究将会支持后期临床试验中合并用药的给药方案设计和临床治疗实践中合并用药给药方案的制定。

4. DDI 临床试验模拟研究

DDI 临床试验模拟研究是通过使用建模与模拟技术和软件，如 PBPK 模型，整合系统特异参数和药物特异参数来前瞻性地预测可能的药物相互作用。例如，预测中等或弱抑制剂/诱导剂对在研药物的影响（一般在获知强抑制剂或诱导剂可显著影响在研药物后进行），需要先用强抑制剂/诱导剂的临床 DDI 药代动力学数据充分验证该

PBPK 模型，然后再用验证后的 PBPK 模型预测中等或弱抑制剂/诱导剂的影响。建议与监管部门讨论使用 PBPK 模型进行预测的可行性以及其应用范围和程度。

（二）前瞻性临床药物相互作用研究

1. 研究一般考虑

前瞻性 DDI 研究通常是独立研究，可用于指针药物或临床常见合并用药品种的相互作用研究，其临床试验应基于相互作用的可能机制（如时间依赖的 DDI）或临床合用药物情况选择正确的指针药物或特定药物，同时应基于相互作用特征（包括相互作用程度、达到最大相互作用的连续给药时长、相互作用的持续时间）、底物和促变药的药代动力学/药效动力学/安全性特征进行设计，选择最灵敏的研究方式进行临床 DDI 评价，以在安全的前提下尽可能观察到最大程度药物相互作用，为临床安全用药提供科学依据。同时，DDI 临床研究还应该考虑是否有与暴露相关的底物安全性问题以及评价抑制或诱导作用的可行性。DDI 临床研究一般以底物在与促变药合用及单用时体内暴露量（如 AUC）的比值为评价指标。为了准确评价该比值，临床试验设计时应考虑如下方面：

1.1 研究人群选择及样本量确定

如果健康受试者的研究结果可以准确外推患者人群的药物相互作用特征，那么 DDI 临床研究应尽可能在健康成人中进行，某些情

况下（如安全性原因或药效动力学研究目的而不适于在健康人群中研究）也可在患者中进行。

一般情况下，相互作用研究的受试者样本量应能准确评价相互作用的程度和变异，同时应考虑受试者个体内变异（平行设计时也要考虑个体间变异）。在相互作用程度的范围尤其重要、潜在的异常值对于临床治疗有重大意义等某些特殊情况下，应在保证安全性的情况下纳入更多的受试者。

1.2 平行或交叉试验设计

DDI 临床试验通常采用随机交叉试验（或顺序试验）设计，并依据底物和促变药单独给药时的药代动力学半衰期、合并用药时底物药代动力学半衰期以及代谢酶或转运体活性恢复至基线水平的时间设定清洗期。一般为双周期交叉试验设计，特殊情况下（如评价酶抑制剂给药后酶活性水平恢复至基线水平的时长或在研药物同时为底物和促变药时），也可考虑三周期交叉试验设计。在交叉试验不可行时，可采用平行试验设计进行 DDI 临床研究，此时应平衡影响在研药物药代动力学特征的内部及外部因素。

1.3 给药方案

1.3.1 剂量

DDI 临床试验中促变药应在安全的前提下选择可观察到最大相互作用的剂量（暴露量接近其临床推荐使用的最高剂量）进行研究，如使用临床治疗推荐给药方案中的最大剂量和最短的给药间隔。

如果底物药物在临床使用剂量范围内呈现线性药代动力学特征，则可选择线性范围内的任一剂量进行研究，否则应选择最能观察到 DDI 的治疗剂量进行研究。如果存在安全性隐患，也可降低底物药物的剂量，此时也可用经验证底物存在剂量依赖性药代动力学特征的 PBPK 模型支持剂量选择。

1.3.2 单次或多次给药

一般情况下促变药应多次给药直至其达到稳态后，再评价其对底物药物的影响。若促变药并非诱导剂或者时间依赖型抑制剂，并且可证明单次与多次给药对酶/转运体的影响相似时，可采用单次给药进行 DDI 研究。另外，促变药有多个相互作用机制时，特定情况下也可以单次给药方式进行研究（如作为 OATP1B1 抑制剂的利福平）。促变药给药时长应达到底物药物在受到相互作用情况下的 3-5 倍半衰期，因此长半衰期底物药物的 DDI 研究可能会要求促变药多次给药。通常，此类临床试验中可能需连续给诱导剂两周以获得其对代谢酶/转运体的最大影响。应提供给药时长的设定依据。

可以通过单次给底物药物来进行 DDI 研究，其暴露量的增加可外推至稳态情况下的 DDI 程度。若其具备时间依赖性药代动力学特征，则底物药物和促变药均应以多次给药的方式进行 DDI 研究。

1.3.3 给药途径

DDI 临床研究中药物给药途径应与临床治疗给药途径一致。当有多种给药途径时，应基于 DDI 的可能机制和经不同途径给药后原

形药和代谢产物相应浓度-时间曲线的相似性确定 DDI 临床试验给药途径。

1.3.4 给药时机

DDI 临床试验设计中应该明确在研药物的给药时间。如果促变药既是抑制剂又是诱导剂时，则给药时机至关重要。例如，在研药物同时是 CYP 酶和 OATP1B 的底物，利福平是 CYP 酶的诱导剂也是 OATP1B 抑制剂，在考察利福平作为诱导剂的 DDI 时，应推迟在研药物的给药时间。有时可研究多个给药方案（在体内或利用数学模拟）以理解交错给药是否会减弱相互作用（如主要发生在吸收环节的 DDI）。当拟评价 DDI 的药物需要不同的进食条件以优化吸收时，应以观察到最大相互作用程度及能反映临床进食条件（如临床合并用药研究）为标准，来确定进食条件和调整给药时间。

1.4 合并用药等其他影响 DDI 的外因

为了降低 DDI 程度的变异，应在受试者入组前一定时间内确认受试者未服用过可能会影响代谢酶或转运体表达或功能的处方或非处方药物、保健品或食物、烟草、酒精、果汁等。若 DDI 机制是诱导或时间依赖性抑制，其禁止服用上述影响物质的时间应更长。

1.5 样本与数据收集

收集的样本应可准确全面评估药物相互作用。如果代谢产物数据有助于理解 DDI 对在研药物有效性或安全性的影响或 DDI 机制，应当测定代谢产物的浓度。底物药物药代动力学采样时长应当足以

在单独用药以及研究预期相互作用给药时准确估计 AUC_{0-inf} (适用于单剂量研究)、 AUC_{0-tau} (适用于多剂量研究) 和峰浓度 (C_{max})，也可依据药代动力学或药理学意义，对额外的药动学参数 (谷浓度 C_{trough} 或部分 AUC) 进行评估。所有研究都应基于对所用药物已有安全性问题的认识，收集相关的安全性信息。

1.6 药效动力学终点

在某些情况下，无法通过血液循环系统药物暴露量预测疗效或毒性变化。如抑制转运体可显著改变特定组织的药物浓度，从而引起毒性，但血液循环系统药物浓度改变不大。此时，若药效学终点可以反映组织浓度变化时，可利用药效学终点和体外数据对因药物组织浓度改变而导致的疗效或毒性改变进行解释。

如果体外数据提示 DDI 可能性，而又无法通过药物系统暴露评估，此时可与监管部门沟通以药效动力学终点为指标进行 DDI 评价。

2. 在研药物为代谢酶底物时 DDI 研究的特殊考虑

评价在研药物为代谢酶底物的 DDI 时，应先研究其与强效抑制剂和诱导剂的临床 DDI，如果未发现明显的 DDI 则无需对该代谢酶介导的 DDI 进行进一步研究。若发现有临床意义的 DDI，则应对中等或弱抑制剂/诱导剂的 DDI 继续进行评价。此时，应使用真实的临床试验或人体数据 (包括强效指针药物) 验证过的 PBPK 模型对 DDI 进行评价。如果无明确可用的强效指针药物，可使用中效指针抑制剂或诱导剂进行 DDI 临床研究。多酶代谢的底物药物，可以

按照预估的影响程度依次进行评价。附录中分别列出各 CYP 酶的相应的强效或中效抑制剂、诱导剂。

3.在研药物为转运体底物时 DDI 研究的特殊考虑

如果体外研究结果显示在研药物为转运体底物，应基于药物的理论作用部位、消除途径、可能的合并用药以及安全性考虑来综合评价是否需要进行 DDI 临床研究，比如下述情况：

P-gP 或 BCRP 介导的 DDI: 当小肠吸收、胆汁分泌和肾主动分泌环节可能显著影响药物药代动力学或响应的变异时；

OATP1B1 或 OATP1B3 介导的 DDI: 当肝、胆汁消除是在研药物的主要消除途径，并且药物特性（如有低被动扩散或高的肝脏药物浓度的特点）支持药物主动摄取进入肝脏时；

OAT1、OAT3、OCT2 或 MATE 介导的 DDI: 在研药物的肾主动分泌过程较为重要（ $\geq 25\%$ 总消除），或可能存在肾脏毒性的问题。

因为转运体普遍缺乏指针抑制剂，因此通常以临床上与在研药物合并用药的可能性作为选择转运体抑制剂的依据。

当在研药物可能是多个转运体通路的底物时，可使用一种能够抑制多个转运体通路的强效抑制剂以观察转运体介导 DDI 中最严重的情况。如果该 DDI 试验为阳性，则应使用更特异的指针促变药进行研究。该方法也可评估同时为转运体及代谢酶的底物的 DDI。

4.在研药物为转运体或代谢酶的促变药时 DDI 研究的特殊考虑

应选择最灵敏的代谢酶或转运体指针底物（基于消除途径的相对贡献、合适的给药方案、安全性特征及相互作用程度）进行 DDI 临床研究，若结果显示有 DDI，则应根据该代谢酶或转运体其它底物共同给药的可能性和指针底物受 DDI 影响的程度考虑是否开展其它底物的临床 DDI。

若代谢酶底物药物并不特异（多酶代谢或同时为转运体底物），只有当在研药物是该底物主要代谢酶的选择性抑制剂或诱导剂时，才可以使用被多酶代谢的底物药物作为指针药物进行 DDI 临床研究。若代谢产物数据有助于理解特异代谢酶活性的改变程度，也可以检测代谢产物浓度。若在研药物是同一代谢酶的抑制剂和诱导剂，其对代谢酶的影响常为时间依赖性，此时药代动力学采样应能体现其影响的时间变化。

可在与监管部门进行沟通交流后确定是否需要评价在研药物诱导转运体的能力。鉴于 CYP3A 和 P-gp 诱导机制的相似性，CYP3A 不受在研药物诱导时，也不必考察在研药物对 P-gp 的诱导作用，但若 CYP3A 可被诱导时，应考察在研药物对 P-gp 的影响，若在研药物也抑制 P-gp 时，诱导试验可与抑制剂试验合并，并应采用多次给药试验设计。

5.鸡尾酒底物研究方法及内源性物质的应用

如果在研药物是多个代谢酶或转运体的促变药，则可以选择“鸡尾酒底物研究法（Cocktail substrate studies）”进行临床研究，此研究

要求（1）选择单个代谢酶或转运体的特异性底物；（2）底物之间无相互作用；（3）受试者样本量足以评价相互作用。如果研究表明在研药物与多种酶无相互作用，就不需要做进一步的评价，否则，应单独进行在研药物与敏感底物的相互作用研究。如果有充分数据支持内源性物质（如 N1-甲基烟酰胺、硫胺素、胆红素）作为指针药物的可能性，研究者可考虑通过在临床试验中测量这些内源性物质来评估在研药物对代谢酶和转运体的影响。

（三）前瞻性嵌套临床相互作用研究

除了开展独立临床相互作用试验以外，还可在其他临床试验中评价 DDI（常通过收集稀疏采集的药动力学样本）。此时，需要谨慎设计临床试验，有针对性地收集影响评价 DDI 的信息（如给药剂量、给药时间、终止给药时间、合并用药以及可显著影响药物暴露等临床因素），有时需要提前进行模拟（如群体药代动力学模型或 PBPK 模型）来支持采样点选择，以达到能充分观察到潜在药物相互作用的目的。在设计良好的研究中，可通过群体药代动力学模型方法评价在研药物为底物时的 DDI。当在研药物为促变药物时，应提前设计并收集足以支持相互作用研究的必要信息时，也可应用群体药代动力学方法进行 DDI 评价，否则（如未测定底物药物浓度）不适用。

（四）临床试验模拟研究

新药临床研发中，需要对 DDI 研究做出预测以辅助临床试验设计，有时也可以根据预测结果评价临床药物相互作用。该研究的主

要目的是评估系统特异参数改变后或药物特异参数受到影响后的药动学特征，其研究方法通常如下：使用体外实测/预测数据建立模型，并使用人体单/多次给药的药动学研究数据和/或物质平衡研究数据验证该模型；使用能体现药物相互作用的数据建立 DDI 模型，以优化 DDI 临床试验的设计，如支持剂量调整。当使用 PBPK 模型模拟来支持临床 DDI 评价时，研究者应使用临床 DDI 数据对 PBPK 模型进行充分验证。值得注意的是，该方法经常使用预测暴露量的均值和临床实测值做比较，但某些情况下对变异性的预测结果的评估也很重要（比如进行敏感性分析时）。某些情况下，选用健康的虚拟人群进行模拟，不能反映患者特性，因此有必要在分析时把这些特性考虑在模型结构中。

（五）其他临床研究设计考虑问题

1. 基因型

如果在研药物为具有多态性的代谢酶或者转运体的底物，在用指针抑制剂或者诱导剂（如奥美拉唑为 CYP2C19 的底物）评价 DDI 程度时，应在具有足够酶活性的受试者中开展 DDI 评价。研究的样本量应当有足够的把握度进行 DDI 评价。若不以代谢酶或者转运体的基因型为标准筛选受试者，应对特定酶或转运体的多态性进行回顾性分析，以便确定各基因型人群之间 DDI 程度的差异和理解个别受试者药物浓度异常的机理。如果该代谢酶或转运体的弱代谢特征

明确且存在弱代谢型受试者（如 CYP2D6 及 CYP2C19），则可用弱代谢者（Poor metabolizer, PM）与快代谢者（Extensive metabolizer, EM）的药代动力学参数比较来替代指针药物 DDI 临床试验以评价 DDI 程度。弱代谢者表现出的暴露增加程度预计与该途径的强抑制剂的暴露增加程度类似，若结果提示 PM 与 EM 的药动学特征有显著差异，则应该使用上文所述该酶的中效促变药继续进行 DDI 评价。

可通过 DDI 研究探索酶与转运体的不同基因型产生的综合影响。若底物以较高比例由特定酶代谢（如 $f_m > 80\%$ ），且该酶有公认的弱代谢型或丧失功能基因型时，则可用基因-药物相互作用研究替代 DDI 临床试验。此时特定转运体不同基因型受试者之间的药动学特征有助于我们理解转运体对药物清除的贡献。

2. 吸烟者

吸烟对 CYP1A2 活性具有诱导作用。因此，如果在研药物为 CYP1A2 的抑制剂或者诱导剂的时候，在临床 DDI 试验设计的时候，应该考虑受试者吸烟状况以避免干扰临床 DDI 评价的结果。如果在研药物属于 CYP1A2 的底物，应在预期患者人群、CYP1A2 诱导对于药物暴露量影响的基础上决定是否进行一项吸烟者研究。

3. 治疗用蛋白药物的相互作用

治疗用蛋白药物（therapeutic protein, TP）相互作用包括治疗用蛋白药物与小分子药物之间的相互作用和治疗用蛋白药物之间的相

互作用。设计试验时应考虑潜在的 DDI 机制，同时考虑蛋白药物的作用机理和清除途径，以及患者人群中可能的合并用药。

蛋白药物的相互作用可能的机制包括但不限于：（1）促炎细胞因子相关机制：①TP 是促炎细胞因子时，细胞因子水平的变化可能会影响 CYP 表达及活性，从而影响 CYP 底物的暴露程度；②TP 是细胞因子调节剂时：当 TP 上调促炎细胞因子水平时，应确定细胞因子水平升高的持续时间和程度，以决定是否需要开展 DDI 试验；当 TP 在高炎症细胞因子环境下下调促炎细胞因子时，应注意由于疾病类型和疾病严重程度不同导致 CYP 表达有差异而带来的影响。（2）非促炎细胞因子相关机制：通常是已观察到或预期蛋白药物对其他药物有影响，此时可根据可能的作用机制来评估 TP 作为受变药或促变药的可能性及其影响大小。可能的机制包括但不限于：TP 可改变合并用药物的药动学特性；影响 TP 靶标或靶点介导的药物处置；影响 FcRn 功能；TP 与免疫抑制剂合并用药时受免疫原性影响的药代动力学改变。（3）抗体-药物结合物（Antibody-drug conjugate, ADC）：首要任务是要了解 ADC 的小分子药物成分的血液循环系统和靶部位暴露量。

4. 中药、天然药物对相互作用评价的影响

中药、天然药物有时候成分复杂或者不明，所以在 DDI 临床试验中，为了避免不明成分对临床 DDI 的影响，建议招募受试者时确定近期没有使用中药、天然药物。如果无法排除来源于中药、天然药

物的某些已知成分在临床合用时引起 DDI 的可能性，应当首先在体外试验中评价药物相互作用的可能性，然后依据评价结果设计 DDI 临床试验。建议与监管部门就中药、天然药物的药物相互作用的开展进行讨论。

5.复杂情况下的相互作用评价

如果多种因素可能会对某一试验用药物的吸收和处置产生影响或者存在多重 DDI 机制，应当在体外研究或临床研究认识的基础上对在研药物的 DDI 潜力进行综合评价。此时适用 PBPK 模型的情况为：（1）整合多项研究的信息；（2）确定某一项临床试验是否适当；（3）为临床研究的设计提供信息参考。

（六）DDI 临床研究结果的报告和解释

1.研究结果的报告

DDI 研究通常选择 AUC_{0-inf} 及 C_{max} 等药物暴露参数作为药代动力学终点。报告的药代动力学研究结果应当包括在合并及不合并使用促变药时，药代动力学观测值的几何均值的比值及其 90%置信区间。同时还应报告相互作用的变异的大小。

应当在研究方案中说明异常值的定义标准，并且区分异常个体与异常数据点。通常应当报告包含和不包含异常值时的分析结果。应报告所有个体的 AUC_{0-inf} 值和外推百分数。应当标明 AUC_{0-inf} 外推百分数超过 20%的个体，并讨论其对 DDI 评价的潜在影响。

应当对药效动力学终点的全部信息进行总结。如果药效动力学终点为连续性变量，则可以与药代动力学数据相同的方式分析和报告。如果药效动力学终点并非连续变量，则应当在征求 CDE 意见的基础上确定适宜的数据分析方法。

1.1 非房室分析结果报告

应当报告所有受试者底物暴露量测定结果，例如 AUC_{0-inf} 、 AUC_{0-t} 、 AUC_{0-inf} 外推百分数、 C_{max} 以及达峰时间 (T_{max})。对于多剂量研究，还应当报告达稳态时的谷浓度 C_{trough} 以及 AUC_{0-tau} 。当清除率、分布容积及半衰期等其他药代动力学参数有助于解释结果时，也应考虑收集这些数据。还应当考虑和报告对 DDI 研究有临床意义的药代动力学参数。测定在研药物（可能是促变药或受变药）代谢产物水平可能有助于明确相互作用的机制或者区分抑制剂或诱导剂对于不同 CYP 酶所介导途径的影响。

1.2 群体药代动力学模型分析结果报告

一般情况下，需报告群体药代动力学分析计算的 AUC_{0-inf} 、 AUC_{0-tau} 、 C_{max} 以及 T_{max} 等药代动力学参数。对于多剂量研究，还应当报告达稳态时的谷浓度 C_{trough} 以及 AUC_{0-tau} 。应当使用群体药代动力学模型中所有合理的结构参数（如清除率 (CL/F)、相对生物利用度、吸收率）对 DDI 进行研究。在某些情况下（例如长半衰期药物），可以在非房室分析的基础上进行群体药动学分析以准确报告 AUC_{0-inf} 。

2.DDI 研究的结果解读

以药代动力学为终点的 DDI 研究旨在确定底物暴露量变化是否具有临床显著性,并为临床 DDI 管理策略提供参考。应以受变药 DDI 无效应边界为依据对研究结果进行解释。无效应边界表示系统暴露量改变的临床意义不足以采取临床措施(如禁用,慎用,用药剂量或方案调整或者其他治疗监测)的边界范围。

2.1 确定无效应边界的方法

目前可通过两种方法可确定无效应边界:

方法 1 (首选): 通过对药代动力学、药效动力学及其他关于受变药的可用数据(如最大耐受剂量)分析得出的浓度-效应关系确定无效应边界。充分理解预期及非预期药物效应的剂量-浓度和/或浓度-效应关系、了解适应症人群在暴露量方面的变异性可能有助于解释得到的数据。

如果 DDI 研究所测得系统暴露量变化的 90%置信区间完全落在上述无效应边界范围之内,则可认为不会出现临床显著性的 DDI。

方法 2 (在方法 1 无法确定无效应边界的情况下或者当研究目的是使用指针底物来确定在研药物是否为促变药物时): 针对此类情况可默认采用 80~125%的无效应边界,即,如果血液暴露比的 90%置信区间完全落在 80~125%的等效性范围之内,则认定不会出现临床显著性的 DDI。

80~125%的边界是衡量药物等效性中一项最保守的标准，因此方法 1 为评价 DDI 对于底物药物安全性有效性影响的首选方法。

2.2 回顾性 DDI 评价的结果解释

回顾性 DDI 评价对于确定临床开发初期无法预期的 DDI 具有价值。当回顾性 DDI 研究结果为阳性，需要讨论是否应开展前瞻性试验对潜在 DDI 进行确认。

2.3 将作为抑制剂或诱导剂的在研药物分类

如果在研药物为 CYP 酶抑制剂，可根据其对于 CYP 指针底物的效应将其分为强效、中效或者弱效抑制剂。按照以下方法对 CYP 抑制强度进行分类：①强效抑制剂可导致某一敏感性 CYP 指针底物的曲线下面积（AUC）升高不低于 5 倍。②中效抑制剂可导致某一敏感性 CYP 指针底物的曲线下面积（AUC）升高不低于 2 倍且小于 5 倍。③弱效抑制剂可导致某一敏感性 CYP 指针底物的曲线下面积（AUC）升高不低于 1.25 倍且小于 2 倍。

上述分类所描述的通常是试验用药物在按最大剂量、最短给药间隔时间情况下所产生的效应。

如果在研药物为 CYP 的诱导剂，可根据其对于 CYP 指针底物的效应将其分为强效、中效或者弱效诱导剂。按照以下方法对 CYP 诱导进行分类：①强效诱导剂可导致某一敏感性 CYP 指针底物的曲线下面积下降不低于 80%。②中效诱导剂可导致某一敏感性 CYP 指针底物的曲线下面积（AUC）下降不低于 50%且小于 80%。③弱效诱

导剂可导致某一敏感性 CYP 指针底物的曲线下面积 (AUC) 下降不低于 20%且小于 50%。

上述分类信息有助于在说明书中对尚未在 DDI 研究中考察过的其他受变药与在研药物合用是否具有临床显著性的 DDI 进行说明。例如，如果在研药物属于一种强效 CYP3A 抑制剂，应考虑其与其他 CYP3A 底物药物发生临床显著性相互作用的潜力，并且也应当考虑在研药物说明书中对此进行说明。

目前，对于转运体以及 II 相代谢酶的诱导剂或者抑制剂还没有标准化的分类系统。

3.研究结果的外推

对在研药物与所有临床可能合用药物都进行临床 DDI 评价并不可行，在可能的情况下应当将 DDI 研究外推到其他未知 DDI 情景中。指针药物 DDI 研究结果通常与具备相同 DDI 机理的其他药物相关，并且可能代表了同类合并用药 DDI 最强的一种情况。例如，如果在与强效 CYP3A4 指针抑制剂合并使用情况下在研药物的暴露量无明显改变，则通常可以推断其他强效、中效或者弱效 CYP3A4 指针抑制剂与在研药物合并使用不会产生效应。如果强效 CYP2D6 指针抑制剂可显著性提高试验用药物的暴露量，则可将此类结果直接外推到其他强效 CYP2D6 抑制剂。但阳性强效抑制剂的研究结果有时不可用于推测中等或弱抑制剂的影响，此时有必要开展 DDI 临床试验或利用 PBPK 模型评价 DDI。

研究结果不能外推且有潜在 DDI 时，应进行临床 DDI 研究。尽管其研究结果外推至其他药物的能力有限，但对临床医生和患者意义重大。

由于缺乏特异性的转运体底物和抑制剂以及转运体可能影响代谢过程，转运体介导的 DDI 研究结果通常无法外推至其他药物。

4.临床 DDI 管理及防控策略

应在发现临床显著性 DDI 时制定 DDI 管理及防控策略。如果合并用药所产生的安全性、疗效或者耐受性方面的问题超过了药物单独给药所产生的相关问题，则认为此相互作用达到了临床显著性水平。

临床 DDI 管理及防控策略通常应当将受变药的药物浓度控制在无效应边界范围之内。此外，还应当考虑包括但不限于以下多种因素：安全性及疗效相关的暴露-效应关系；DDI 的变异程度；合并用药的预期疗程（如急性期、短期或者长期使用一种或者两种药物）；联合用药的时间（即在基础用药上增加在研药物或服用在研药物的基础上增加联合用药）；发生 DDI 的机制（即竞争性、非竞争性或时间依赖性抑制作用、诱导作用、合并抑制诱导作用）；监测指标的可行性（即治疗药物监测、实验室检验）；适应症患者对于新药的临床需求、终止对合并相互作用药物的可能性，以及患者在可能发生临床显著相互作用时是否可选择其他治疗方案。

基于上述考虑，DDI 管理及防控策略可包括合并用药禁忌、避免合并用药、暂时停用其中一种相互作用药物、调整药物剂量、错时用药（例如在与抑酸药不同的时间给药）以及专门的监测策略（如治疗药物监测、实验室检验）。

四、说明书起草建议

说明书应当总结安全有效用药所需的关键 DDI 信息，包括来源于前瞻性 DDI 临床研究（如独立的 DDI 研究、嵌套型 DDI 研究）的数据及结果、群体药代动力学分析、PBPK 分析、上市后报告或者根据其他信息推断的数据。对 DDI 的描述也应包括对作用机制（在已知的情况下）进行简要讨论。禁忌症或警告与注意事项部分所描述的 DDI 必须在 DDI 项下进行更详细的讨论。

如果需要并且有足够的信息支持对给药剂量或方案进行调整，应包括因 DDI 而采取的剂量调整方案等（如调整给药剂量、改变给药时间）具有特定意义的相关信息。列出因风险明确超出任何可能的治疗效果而不应当与该药合并使用的其他药物。已知的 DDI 风险必须予以列出。

五、名词解释

促变药（Perpetrator）：能够诱导或抑制酶或转运体的药物。

受变药（Victim）：由于抑制或诱导酶或转运体而使其暴露发生变化的药物。

可逆性抑制 (Reversible inhibition): 抑制剂以非共价键与酶分子可逆性结合造成酶活性的降低或丧失, 抑制消失后酶活性即可恢复的作用。

时间依赖性抑制 (Time- dependent inhibition, TDI): 在不可逆性抑制中, 抑制剂对代谢酶或转运体的抑制效应在除去抑制剂后不会即刻消失, 而是呈现出时间依赖的特性的现象。

生理药代动力学模型 (Physiologically based pharmacokinetic model, PBPK 模型): 利用数学模型整合机体的生理学、生物化学和解剖学以及药物的理化性质等信息, 按照机体循环系统的血液流向, 将机体各组织或器官相互联结, 并遵循质量平衡原理模拟药物在体内的分布和清除过程。

前瞻性嵌套 DDI 研究 (Prospective nested DDI studies): 是指主要终点与独立的 DDI 研究不同, DDI 研究只是临床试验的一部分。但是, 这些试验的设计也要充分考虑对 DDI 的前瞻性研究, 并将 DDI 研究定义为临床终点之一。

前瞻性独立 DDI 研究 (Prospective standalone DDI studies): 将 DDI 作为主要的临床终点, 而前瞻性设计的独立的临床试验。

回顾性 DDI 评估 (Retrospective DDI evaluations): 尚未进行前瞻性和充分设计的临床 DDI 评估。

鸡尾酒底物研究 (Cocktail substrate study) 使用多种代谢酶和/或转运体底物同时给药的研究方式对在研药物作为多种酶和/或转

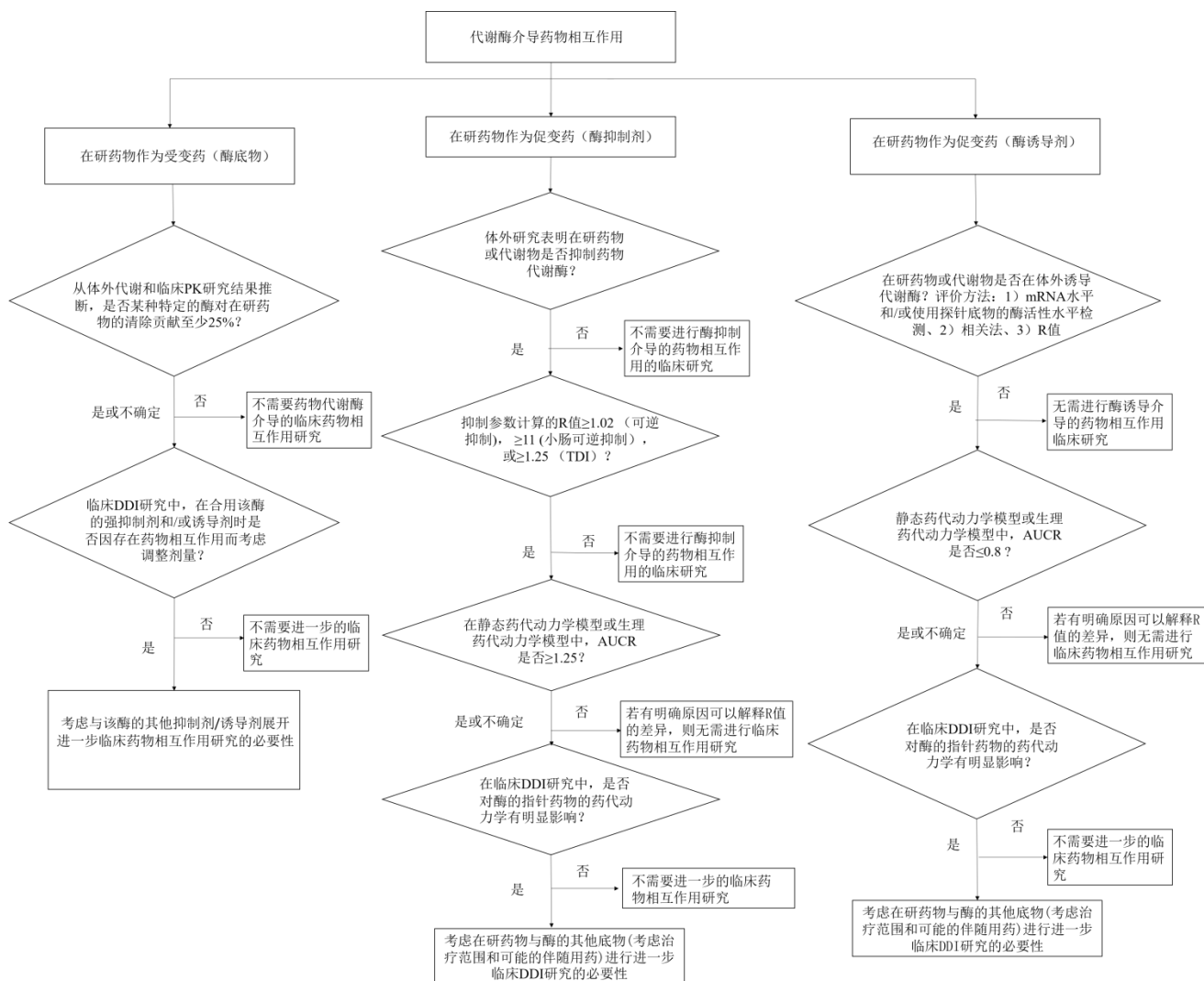
运体的潜在诱导剂或抑制剂同时进行评价的一种研究。

六、参考文献

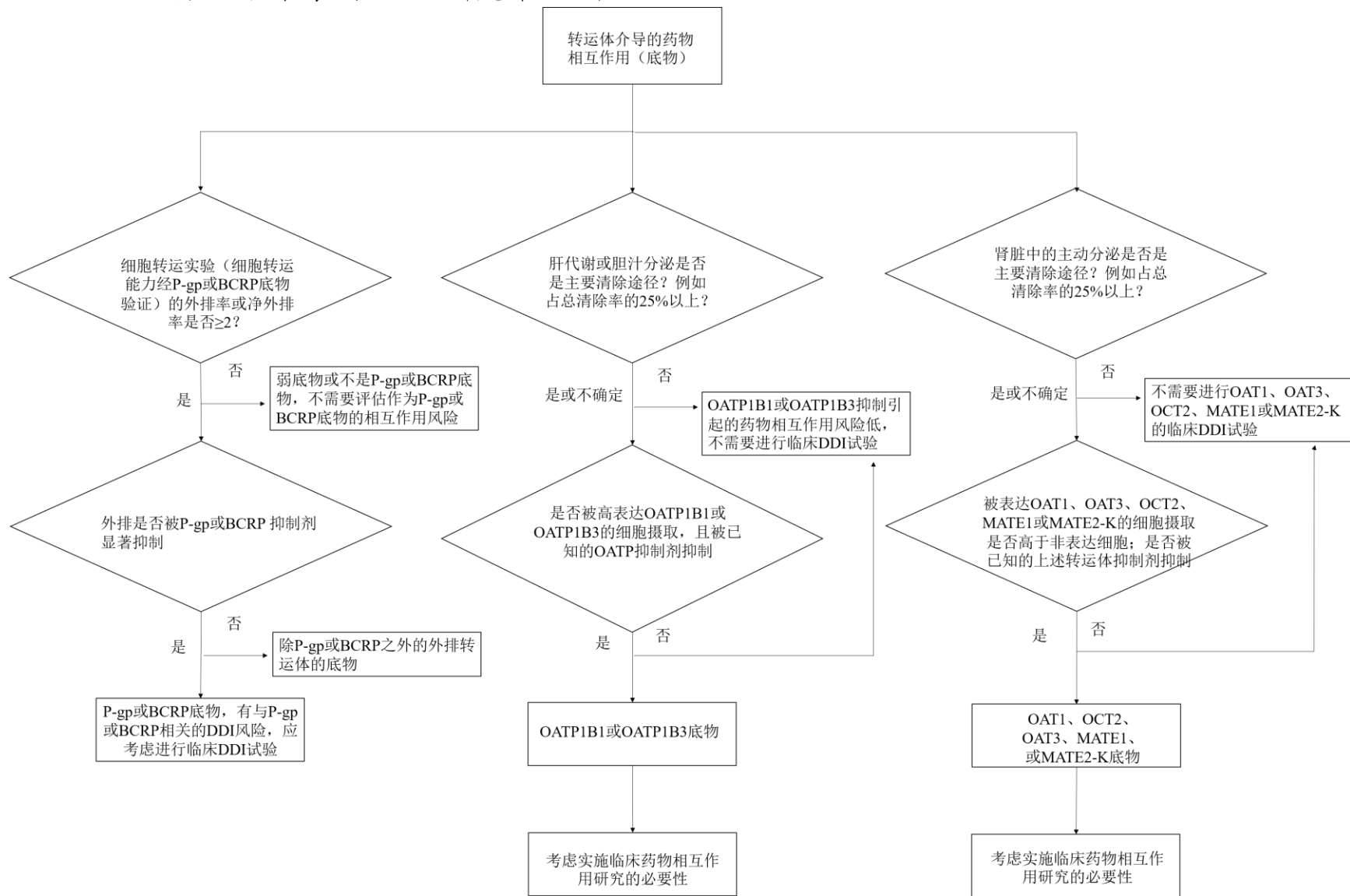
1. FDA. Guidance for Industry: In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-mediated Drug Interactions, 2020.
2. FDA. Guidance for Industry: Clinical Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme and Transporter-Mediated Drug Interactions, 2020.
3. PMDA. Guideline on Drug Interaction for Drug Development and Appropriate Provision of Information, 2019.
4. EMA. Concept Paper on a Revision of the Guideline on the Investigation of Drug Interactions, 2017.
5. FDA. Draft Guidance for Industry: Drug-Drug Interaction Assessment for Therapeutic Proteins, 2020.
6. FDA. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System, 2017.

七、附录

(一) 代谢酶介导的 DDI 研究策略图



(二) 转运体介导的 DDI 研究策略图



（三）基于模型预测药物间的相互作用

不同机制引起的药物间相互作用可采用数学模型进行预测。其中比较常用的数学模型有基础模型、静态机制模型和 PBPK 模型。基础模型对于数据的要求最少，也最简单，但只能预测单一机制下酶或者转运体调节剂对底物的影响。静态机制模型对于体内和体外的数据的要求都有所增加，其考虑了更为详细的底物处置过程，可预测不同机制下酶调节剂对底物的影响。PBPK 模型对数据的要求最高，往往需要临床试验数据验证模型的可靠性，但其预测能力也最强，可预测不同情况下，不同机制引起的药物相互作用。应基于预测目的及可用的体外或者体内数据，选用合适的模型对可能的机制引起的 DDI 进行预测。

1.基础模型

评估在研药物是否会抑制或诱导代谢酶可从基础模型开始，如计算可逆抑制的 R_1 和 $R_{1,gut}$ ，TDI 的 R_2 和诱导的 R_3 值，以及诱导的倍数变化和相关性方法。如果基础模型不能排除 DDI 的可能性，应进一步使用静态机制模型或者 PBPK 模型进行预测，或者开展临床研究考察。

2.静态机制模型

静态机制模型包含更为详细的底物的处置过程，同时通过考虑在不同机制下酶调节剂对底物的影响，可定量评估酶调节剂在体内

对底物暴露量的总体影响。静态机制模型通过以下公式计算酶调节剂对底物药物的总体影响：

$$AUCR = \left(\frac{1}{[A_g \times B_g \times C_g] \times (1 - F_g) + F_g} \right) \times \left(\frac{1}{[A_h \times B_h \times C_h] \times f_m + (1 - f_m)} \right)$$

A: 可逆抑制的作用；B : TDI 的影响；C: 诱导作用；F_g: 被小肠吸收且未经肠代谢的药物分数；f_m: 在总体肝脏清除中受抑制剂或者诱导剂影响的 CYP 酶介导的底物清除的分数。下标 h 表示肝脏；下标 g 表示肠道

A,B,C 可以分别用下述公式估算：

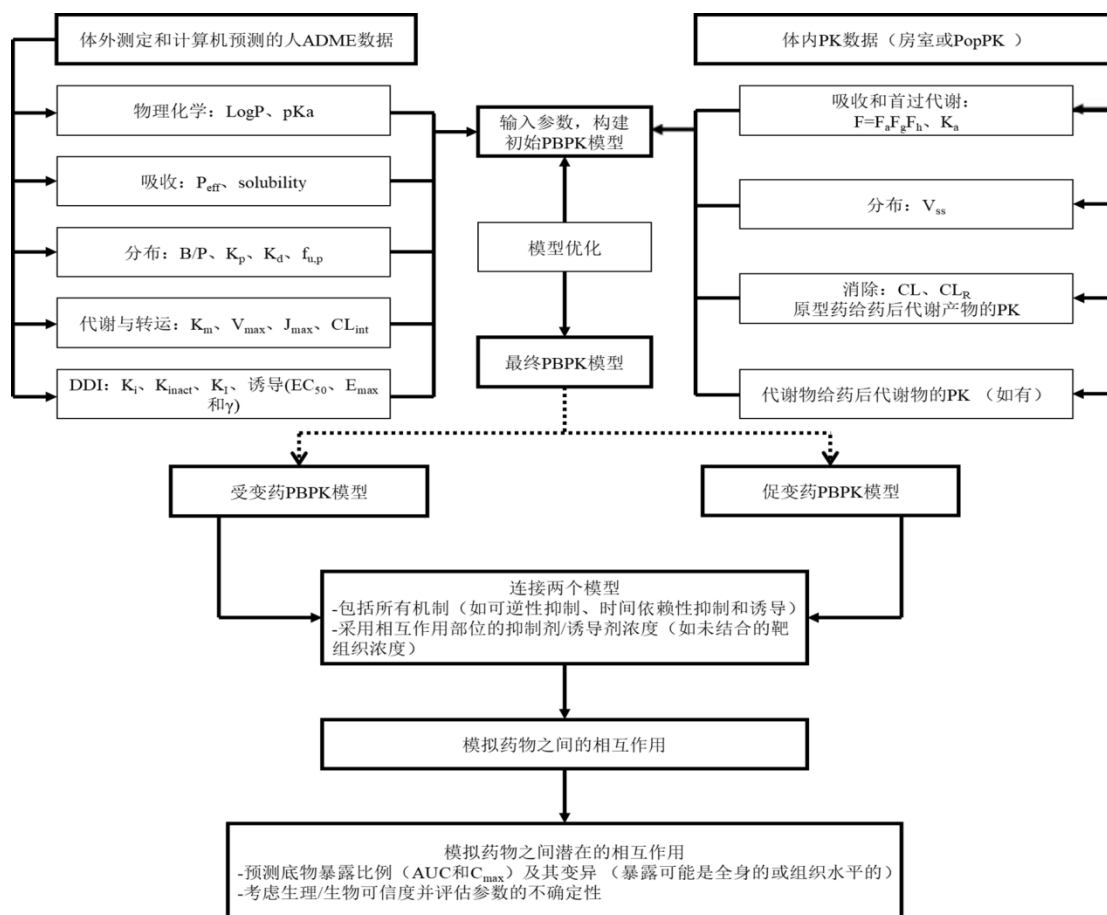
	肠道	肝脏
可逆性抑制	$A_g = \frac{1}{1 + \frac{[I]_g}{K_i}}$	$A_h = \frac{1}{1 + \frac{[I]_h}{K_i}}$
时间依赖性抑制	$B_g = \frac{k_{deg,g}}{k_{deg,g} + \frac{[I]_g \times k_{inact}}{[I]_g + K_i}}$	$B_h = \frac{k_{deg,h}}{k_{deg,h} + \frac{[I]_h \times k_{inact}}{[I]_h + K_i}}$
诱导	$C_g = 1 + \frac{d \cdot E_{max} \cdot [I]_g}{[I]_g + EC_{50}}$	$C_h = 1 + \frac{d \cdot E_{max} \cdot [I]_h}{[I]_h + EC_{50}}$
$[I]_h = f_{u,p} \times (C_{max} + F_a \times F_g \times k_a \times Dose / Q_h / R_B)$; $[I]_g = F_a \times k_a \times Dose / Q_{en}$; f_{u,p}: 药物在血浆中的游离分数。当由于血浆蛋白结合率高而难以精确测量时（即 f_{u,p}<0.01），f_{u,p} 应取 0.01; C_{max}: 稳态时血浆中最大抑制剂总浓度（即游离部分加上结合部分）; F_a: 口服后的吸收分数，当数据无法获得时，应取 1; k_a: 体内一级吸收速率常数，当数据无法获得时，可取值 0.1 min⁻¹; Q_{en}: 肠上皮细胞的血流量（如，18 L/hr/70 kg）; Q_h: 肝血流量（如，97 L/hr/70 kg）; R_B: 全血-血浆浓度比; d: 校正因子，可以假设为 1。如果之前利用该系统做过的试验支持其他数值，也可采用。		

使用静态机制模型预测时的注意事项：（1）研究中不建议使用该模型估计抑制与诱导作用同时存在时的共同效应。（2）若膜的通透性是底物药物进入组织的限制因素（如底物药物通过转运体进入组织），则应谨慎使用该模型评估抑制剂或者诱导剂对该底物药物的

相互作用。(3)若底物药物具有明显的肝脏外清除时,应谨慎使用该模型评估抑制剂或者诱导剂对该底物药物的相互作用。(4)若底物药物和抑制剂/诱导剂间的相互作用并非仅由代谢酶介导(如抑制剂药可改变底物的吸收),则需要进一步评估因其他机制引起的药物反应,以全面评估底物药物和抑制剂/诱导剂的相互作用程度。

3.PBPK 模型

PBPK 模型是一种基于生理学的药代动力学模型。模型中包含了药物参数和个体生理参数。其模型基本框架如下图所示。理论上讲,PBPK 模型可以预测在不同情况,不同个体中、不同机制引起的药物间相互作用。目前 PBPK 模型主要用于合理评估酶和转运体介导的药物相互作用。



ADME: 吸收、分布、代谢和排泄;

AUC: 血浆药物浓度-时间曲线下的面积;

B/P: 全血与血浆的比例;

C_{max}: 最大浓度;

CL: 清除率;

CL_{int}: 固有清除率;

CL_R: 肾脏清除率;

DDI: 药物相互作用;

EC₅₀: 产生最大效应一半的浓度;

E_{max}: 最大效应;

F: 生物利用度;

F_a: 吸收分数;

F_g: 被小肠吸收且未经肠代谢的药物分数;

F_h: 进入肝脏且未经肝脏代谢的药物分数;

f_{u,p}: 血浆游离分数;

γ: 希尔系数;

IC₅₀: 半数最大抑制浓度;

J_{max}: 转运体介导的吸收/外排的最大速率;

K_a: 一级吸收速率常数;

K_d: 药物-蛋白质复合物的解离常数;

K_i: 可逆抑制常数, 达到最大抑制一半时的浓度;

K_I: 表观失活常数, 达到最大失活一半时的浓度;

k_{inact}: 表观最大失活速率常数;

K_m: 达到最大反应或转运速率一半时的底物浓度;

K_p: 药物的组织-血浆分配系数;

LogP: 辛醇-水分配系数的对数;

V_{ss}: 稳态分布容积;

P_{eff}: 空肠的渗透性;

PK: 药代动力学;

PopPK: 群体药代动力学;

V_{max}: 代谢产物形成的最大速率。

PBPK 模型的基本考虑

(1) 在研药物作为受变药的情况下, 使用PBPK建模预测由酶介导的DDI时, 应考虑的要点对但不限于以下问题: ①受变药的

基础PBPK模型是否能够准确描述不同的给药方案（如，剂量比例研究）和给药途径（如静脉或口服）下的临床药动学研究数据；②各个消除途径对于受变药整体药物清除的贡献率是否可以根据体内或者体外数据得到定量估计；③促变药模型是否可以准确描述其对相应酶活性的影响，并且促变药与受变药的PBPK模型应包括两药产生相互作用的可能机制；④对于高度不确定性的参数，是否进行了敏感性分析；⑤如果预期代谢和转运机制较为复杂，受变药和促变药模型是否包括主要的药物处置和相互作用机制，且已得到逐步验证等。

如果模型可以准确描述强效酶抑制剂或诱导剂的体内DDI数据，则可以使用PBPK模型评价中效或弱效的促变药对受变药（在研药物）PK的影响。

（2）在研药物作为促变药的情况下，使用PBPK建模预测由酶介导的DDI时，应考虑的要点对包括但不限于以下问题：①促变药的PBPK模型是否能够准确描述不同的给药方案（例如剂量比例研究）和给药途径（如静脉或口服）下的临床药动学研究数据；②指针底物（受变药）模型是否可以准确描述当相应的酶受到影响时，受变药PK的变化，并且促变药与受变药的PBPK模型应包括两药产生相互作用的可能机制；③当抑制与诱导作用同时存在时，是否分别评估了抑制和诱导机制引起的药物相互作用（该方法可以对其在体内的

酶抑制或诱导作用做保守估计； ④对于高度不确定性的参数，是否进行了敏感性分析。

由于并不完全了解其他机制引起的药物相互作用的机理，对生物学知识的缺乏以及对某些生理参数的未知情况，使用 PBPK 模型进行其他机制引起的药物相互作用时的预测力仍需进行确认。但一般需要明确药物间可能存在的作用机制，各个机制所对应的关键模型以及关键参数需要基于体内数据进行验证，例如若药物间相互作用是由胃内 pH 改变引起的，则需要对吸收模型以及与吸收相关的理化参数（如溶解度）做合理估计，如可能，需要使用食物-药物相互作用的药动学数据或者不同剂型下的药动学数据对模型进行验证。对于由疾病合并其他机制引起的药物相互作用，则需要不仅验证模型在疾病人群中对在研药物一般情况下 PK 的预测力，同时也要对其他机制引起的药物相互作用进行验证。对于高度不确定性的参数，需要进行敏感性分析。

（四）体外评估代谢酶介导的药物相互作用

1. 体外试验系统

（1）人肝组织的亚细胞组分，如微粒体、肝组织匀浆 9000 g 离心后的上清液（S9）和胞浆（必要时加入合适辅酶因子）；

（2）源于多种表达系统的重组人 CYP 酶；

（3）人肝组织，包括新鲜制备和冷冻保存的肝细胞，其可保存细胞及酶结构并包含完整的 I 相和 II 相代谢酶。

2. 评估在研药物是否为代谢酶底物

鉴定药物代谢的 CYP 同工酶的常用方法：①使用化学品、药物或抗体作为人肝微粒体或肝细胞中特定酶的抑制剂；②使用单独的人源重组 CYP 同工酶。

在进行代谢表型试验时，需注意以下事项：

（1）合理选择阳性对照药物（已经过验证的探针底物、强抑制/诱导剂）并证明其已知作用；试验系统可靠且可重现。

（2）建议同时使用以上两种方法确定药物代谢的特定同工酶。

（3）使用单独的人源重组 CYP 同工酶时，应考虑其和人肝脏之间 CYP 酶表达量和活性的差别。

（4）当测定单个 CYP 同工酶对在研药物总代谢的作用程度时，可测量原形药的减少或代谢产物的生成。

（5）当测定单个 CYP 酶对特定代谢产物形成的贡献程度时，应测定该代谢产物的生成速率，且生成速率一般应呈线性。

（6）应建立经验证且可重复的分析方法测定原形药及代谢产物的浓度。

（7）使用放射性标记的药物有利于采用液相色谱联用放射性检测器和质谱仪分析样品，可同时定性和定量测定代谢产物。

（8）如果在研药物各异构体均具有明显不同的处置特性（如两种异构体具有不同药理活性），则应分别评价外消旋药物的各异构体。

(9) 大多数化学抑制剂对单个 CYP 酶无特异性。应在相同试验条件下使用单个 CYP 酶的指针底物验证抑制剂的选择性和效能。

3. 评估在研药物是否为代谢酶的抑制剂

在人肝组分系统中，通常采用指针底物法在研药物对 CYP 酶的抑制机制（如可逆性或时间依赖性抑制）和抑制强度（如 K_i 用于可逆抑制， K_I 和 k_{inact} 用于时间依赖性抑制）。

当采用体外系统研究酶抑制时，需注意以下事项：

(1) 指针底物应具有选择性（如主要通过混合的人肝微粒体或单一的重组 CYP 酶代谢）并且应有简单的代谢途径（理想情况下，药物不连续代谢）。

(2) 指针抑制剂的动力学常数（ K_i 、 IC_{50} 、 K_I 和 k_{inact} ）应与文献报道的值或研究者内部的参考值接近。体外代谢系统可以是混合人肝微粒体（如混合 10 个以上供体的肝脏微粒体）、混合冻存人肝细胞（如混合 10 个以上供体的肝细胞）或重组 CYP 酶。为了获得抑制参数，可以考虑将富含人血浆的原代肝细胞作为模拟真实生理条件的体外研究系统。

(3) 应使用指针底物检测 4~8 个浓度的在研药物的抑制作用，首选高浓度（如游离药物 C_{max} 的 50 倍或剂量的 0.1 倍/250 mL）。但不应超过药物的溶解度极限且不应影响细胞模型的评价（如细胞毒性）。如果初始高浓度能抑制特定酶，则应检测较低药物浓度的抑制作用，并计算药物的 IC_{50} 值或 K_i 值。

(4) 确定药物 IC_{50} 值的代表性试验包括以 $\leq$ 指针底物 K_m 的浓度进行孵育试验, 以使抑制剂的 IC_{50} 与其 K_i 值的关联性更强。测定 K_i 值时, 浓度范围应涵盖指针底物的 K_m 和抑制剂的 K_i 值。

(5) 如果体外试验结果表明 K_i 将显著高于试验中测定的浓度, 则无需对 K_i 值进行测定, 但需充分讨论以支持该决定。如果已通过几种不同体外试验系统或者同一种酶的多个底物 (如 CYP3A 底物) 测定了 K_i 值, 则在进行体内结果预测时应采用所获得的最低 K_i 值。

(6) 微粒体蛋白浓度通常应低于 1 mg/mL。如果化合物和微粒体蛋白的非特异性结合会影响动力学参数的分析, 则应该对微粒体蛋白的非特异性结合进行校正, 即利用药物在孵育体系中的游离分数 ($f_{u, mic}$) 来校正。 $f_{u, mic}$ 可以通过试验测定 (如使用平衡透析法或超滤法) 或使用数学模型预测。

(7) 一般应避免孵育时指针底物或抑制剂发生显著的减少。但当底物 K_m 较低, 难以避免底物浓度较低时引起底物耗尽, 此时测定抑制动力学参数时应考虑底物耗尽的情况。

(8) 因某些有机溶剂可以抑制或诱导酶活性, 所以应使用尽可能低浓度的有机溶剂 ($<1\%$ (v/v), 优选 $<0.5\%$)。试验应包括溶剂 (载体) 对照, 必要时还应包括无溶剂对照。

(9) 通常可对在研药物的 TDI 进行常规筛查: 在加入底物前对其进行预孵育 (如 30 分钟), 如果指针药物的初始代谢产物的生成显著减少, 且呈时间和辅酶因子 (如 NADPH) 依赖性, 则提示可能

存在 TDI，此时需进一步开展体外试验以获得 TDI 参数（即 k_{inact} 和 K_I ）。

4. 评估在研药物是否为代谢酶的诱导剂

可选择冷冻保存或新鲜分离的人肝细胞研究在研药物诱导 CYP 酶的能力。其他体外系统（如永生化肝细胞系）或技术手段可提供支持性数据，但需证明这些体系和技术的适用性。可接受的研究终点包括 mRNA 水平和/或使用指针底物的酶活性水平检测。仅测量酶活性的主要问题是：当同时存在抑制作用时，可能会掩盖诱导作用，而通过测量 mRNA 水平进行转录分析可以解决该问题。应通过阳性对照验证系统，证明其中所有主要的 CYP 酶有功能且可被诱导。

当采用体外系统研究酶诱导时，需注意以下事项：

（1）在研药物浓度范围应涵盖临床治疗的暴露范围。在溶解度允许的情况下，该药物浓度范围应包括至少一个比体内最大的非结合稳态血药浓度高一个数量级的浓度。每个浓度应平行重复三次。此外，还应测定游离药物浓度，以帮助预测临床药物相互作用。

（2）建议至少使用 3 名供体的肝细胞。如果至少有一个供体肝细胞的研究结果超过预定临界值，则应考虑该药物为体外诱导剂，并开展后续评估。

（3）应证明所用试验方法均能准确评估在研药物的潜在诱导作用，避免出现假阴性的预测。

(4) 在研药物一般需孵育 48~72h, 以达到对酶的完全诱导。最佳孵育时间为既能检测到酶诱导而又不引起细胞毒性。应对孵育时间的缩短给出合理的说明。

(5) 在研药物在孵育体系中的实际浓度对于将体外结果推导至体内情况非常重要。建议在孵育最后一天的若干时间点测量培养液中原形药的浓度。

(五) 体外评估转运体介导的药物相互作用

1. 体外试验系统

根据研究目的可选择适用于特定转运体的体外检测系统, 如膜囊泡系统、基于极化细胞的双向转运系统或单向摄入的细胞系统。

表 1 转运体介导的药物相互作用的体外系统

转运体	体外系统
ABC 转运体	
BCRP, P-gp	Caco-2 细胞, 商品化的或研究机构自行构建的膜囊泡, 基因敲除细胞, 转染的细胞 (MDCK, LLC-PK1 等)
溶质载体 (SLC) 转运体	
OATP1B1/3	肝细胞, 转染的细胞 (CHO, HEK293, MDCK 等)
OAT1/3, OCT2, MATEs*	转染的细胞 (CHO, HEK293, MDCK 等) 商品化的或研究机构自行构建的膜囊泡, 转染的细胞 (CHO, HEK293, MDCK)

CHO: 中国仓鼠卵巢细胞; HEK293: 人胚肾 293 细胞; LLC-PK1: Lewis 肺癌猪肾细胞 1; MDCK: Madin-Darby 犬肾细胞; *MATEs 的功能取决于相反方向的质子梯度的驱动力, 故应采用合适的 pH 值。

(1) 膜囊泡系统: 评估在研药物是否为 P-gp 或 BCRP 的底物或抑制剂, 但不适用于高渗透性或高特异性结合的药物作为底物的评估。应直接测定三磷酸腺苷 (ATP) 依赖性、转运体介导的药物摄取。

(2) 基于极化细胞的双向转运系统：用于评估在研药物是否 P-gp 或 BCRP 的底物或抑制剂。将试验药添加到单层细胞的顶侧 (apical, AP) 或基底侧 (basolateral, BL), 测量渗透入接收室中的药量, 根据 AP→BL (吸收) 和 BL→AP (流出) 两个方向上的表观渗透率 (apparent permeability, P_{app}), 计算底物的外排率 ($ER = P_{app} (BL \rightarrow AP) / P_{app} (AP \rightarrow BL)$)。

(3) 单向摄入的细胞系统：评估在研药物是否是溶质载体 (solute carrier, SLC) 转运体 (如 OCT, OAT, OATP 和 MATE) 的底物或抑制剂。转染细胞需要先使用转运体的指针底物验证, 即指针底物的摄取量应是非转染细胞摄的 2 倍以上, 且可被该转运体的选择性抑制剂所抑制。

2. 评估在研药物是否为转运体的底物的注意事项

(1) 药物浓度应涵盖临床相关浓度的范围 (如对肠道转运体, 除溶解度限制外, 可以覆盖 0.01 至 1 倍剂量/250 mL 的范围)。

(2) 体外试验浓度可受到在研药物的水溶性、与培养皿的非特异性结合以及细胞毒性作用等多种因素的限制。

(3) 如果体外系统表达多种转运体, 则应使用两种或两种以上已知的抑制剂验证研究结果。

3. 评估在研药物是否为转运体抑制剂的注意事项

(1) 根据药物的溶解度和细胞毒性, 试验浓度应从高浓度开始 (至少比该药物的临床相关浓度高一个数量级)。

(2) 由于转运体在组织中的不同位置表达，因此应考虑不同的临床相关浓度（如对位于肾脏的摄取转运体计算游离药物 $C_{\max}$ ，对肝脏摄取转运体计算肝门静脉处最大游离药物浓度，对肠顶端转运蛋白，药物浓度应覆盖 $0.1 \times \text{剂量}/250\text{mL}$ ）。若在研药物显示抑制活性，应测试其他浓度以计算 IC_{50} 或 K_i 值，并将其与临床血浆或肠道浓度进行比较，以预测潜在的 DDI。

(3) 指针底物浓度应能够使其呈线性转运，通常小于或等于其转运体的 K_m 值。

(4) 评价在研药物对 OATP1B1 和 OATP1B3 的抑制作用时，需考虑进行预孵育，评估 TDI 是否会使其的 IC_{50} 降低。如环孢菌素及其代谢产物 AM1 是 OATP1B 的时间依赖性抑制剂。

(5) 抑制作用可能有底物依赖性，故应选择后期可能用于临床研究的指针底物确定在研药物的抑制常数。也可使用对已知抑制剂产生较低 IC_{50} 的指针底物以避免低估在研药物潜在的相互作用。

(6) 可使用阳性和阴性对照对实验室内部的体外系统进行校正，以获得临界值，为 DDI 临床研究提供参考。

(六) 用于评估药物相互作用的药物清单

表 2 体外试验可选择的 CYP 酶指针底物及其特征反应

酶	特异性底物	特征反应
CYP1A2	非那西丁(phenacetin)	非那西丁-O-去乙基化反应
	7-乙氧基试卤灵(7-ethoxyresorufin)	7-乙氧基试卤-去乙基化反应
CYP2B6	依法韦仑(efavirenz)	依法韦仑羟化反应
	安非他酮(bupropion)	安非他酮羟化反应
CYP2C8	紫杉醇(paclitaxel)	紫杉醇 6 α -羟化反应
	阿莫地喹(amodiaquine)	阿莫地喹 N-去乙基化反应
CYP2C9	S-华法林(S-warfarin)	S-华法令 7-羟化反应
	双氯芬酸(diclofenac)	双氯芬酸 4'-羟化反应
CYP2C19	S-美芬妥英(S-Mephenytoin)	S-美芬妥英 4'-羟化反应
CYP2D6	丁呋洛尔(bufuralol)	丁呋洛尔 1'-羟化反应
	右美沙芬(dextromethorphan)	右美沙芬 O-去甲基化反应
CYP3A4/5*	咪达唑仑(midazolam)	咪达唑仑 1'-羟化反应
	睾酮(testosterone)	睾酮 6 β '-羟化反应

*对于 CYP3A4/5, 应同时选用两种底物进行试验。

表 3 体外试验可选择的 CYP 酶特异性抑制剂

酶	特异性抑制剂	备注
CYP1A2	α -奈黄酮(α -naphthoflavone)	
	呋拉茶碱(furafylline)	时间依赖性抑制剂
CYP2B6	舍曲林(sertraline)	
	苯环己哌啶(phencyclidine)	时间依赖性抑制剂
	塞替派(thiotepa)	时间依赖性抑制剂
	噻氯匹定(ticlopidine)	时间依赖性抑制剂
CYP2C8	孟鲁司特(montelukast)	
	槲皮素(quercetin)	
	苯乙肼(phenelzine)	时间依赖性抑制剂
CYP2C9	磺胺苯吡唑(sulfaphenazole)	
	替尼酸(tienilic acid)	时间依赖性抑制剂
CYP2C19	S-(+)-N-3-benzyl-nirvanol,	
	诺卡酮(nootkatone)	
	噻氯匹定(ticlopidine)	时间依赖性抑制剂
CYP2D6	奎尼丁 quinidine	
	帕罗西汀(paroxetine)	时间依赖性抑制剂
CYP3A4/5	伊曲康唑(itraconazole)	
	酮康唑(ketoconazole)	
	阿扎莫林(azamulin)*	时间依赖性抑制剂
	竹桃霉素(troleandomycin),	时间依赖性抑制剂
	维拉帕米(verapamil)	时间依赖性抑制剂

表 4 体外试验可选择的 CYP 酶诱导剂

酶	诱导剂
CYP1A2	奥美拉唑(omeprazole), 兰索拉唑(lansoprazole)
CYP2B6	苯巴比妥(phenobarbital)
CYP2C8	利福平(rifampicin)
CYP2C9	利福平(rifampicin)
CYP2C19	利福平(rifampicin)
CYP3A4/5	利福平(rifampicin)

表 5 临床试验可选择的 CYP 酶指针底物

酶	底物	备注
CYP1A2	替扎尼定(tizanidine)	
	咖啡因(caffeine)	
CYP2B6	-	CYP2B6 缺乏指针底物
CYP2C8	瑞格列奈(repaglinide)	也是 OATP1B1 底物
CYP2C9	甲苯磺丁脲(tolbutamide)	中等敏感底物
	S-华法林(S-warfarin)	中等敏感底物
CYP2C19	兰索拉唑(lansoprazole)	中等敏感底物
	奥美拉唑(omeprazole)	
CYP2D6	地昔帕明(desipramine)	
	右美沙芬(dextromethorphan)	
	奈必洛尔(nebivolol)	
	美托洛尔(metoprolol)	
CYP3A	咪达唑仑(midazolam)	
	三唑仑(triazolam)	

表 6 临床试验可选择的 CYP 特异性抑制剂

酶	抑制剂	备注
CYP1A2	氟伏沙明(flvoxamine)	也是 CYP2C19 的强抑制剂, CYP2D6 和 CYP3A 的中等强度抑制剂。
	依诺沙星(enoxacin)	
	噻氯匹定(ticlopidine)	
CYP2B6		CYP2B6 缺乏特异性抑制剂
CYP2C8	吉非贝齐(gemfibrozil)	强抑制剂, 也是 OATP1B1 和 OAT3 抑制剂, 其葡萄糖醛酸结合物是 CYP2C8 和 OATP1B1 的抑制剂。
	氯吡格雷(clopidogrel)	中等强度抑制剂, CYP2B6 的弱抑制剂和 OATP1B1 抑制剂, 其葡萄糖醛酸结合物也是 CYP2C8 和 OATP1B1 抑制剂。

CYP2C9	氟康唑(fluconazole)	中等强度抑制剂，也是 CYP2C19 的强抑制剂和 CYP3A 的中等强度抑制剂。
CYP2C19	氟伏沙明 (fluvoxamine)	也是 CYP1A2 的强抑制剂，CYP2D6 和 CYP3A 的中等强度抑制剂。
	氟康唑 (fluconazole)	也是 CYP2C9 和 CYP3A 的中等强度抑制剂
	氟西汀(fluoxetine)	也是 CYP2D6 的强抑制剂
	噻氯匹定(ticlopidine)	
CYP2D6	帕罗西汀(paroxetine)	
	氟西汀 (fluoxetine)	也是 CYP2C19 的强抑制剂，P-gp 抑制剂。
	奎尼丁(quinidine)	也是 P-gp 抑制剂
CYP3A4	克拉霉素(clarithromycin)	也是 P-gp 抑制剂
	伊曲康唑(itraconazole)	也是 P-gp 抑制剂
	酮康唑(ketoconazole)	也是 P-gp 抑制剂
	利托那韦(ritonavir)	也是 P-gp 抑制剂

表 7 临床试验可选择的 CYP 酶诱导剂

酶	诱导剂	备注
CYP1A2	苯妥因(phenytoin)	中等强度诱导剂
	利福平(rifampicin)	强诱导剂
CYP2B6	利福平(rifampicin)	中等强度诱导剂
	卡马西平(carbamazepine)	
CYP2C8	利福平(rifampicin)	中等强度诱导剂
CYP2C9	利福平(rifampicin)	中等强度诱导剂
CYP2C19	利福平 (rifampicin)	强诱导剂
	苯妥因 (phenytoin)	中等强度诱导剂
CYP3A	利福平 (rifampicin)	强诱导剂
	苯妥因 (phenytoin)	强诱导剂
	卡马西平 (carbamazepine)	

表 8 体外试验可选择的转运体指针底物

转运体	底物	备注
P-gp	地高辛(digoxin)	也是 OATP1B3 底物
	非索非那丁(fexofenadine)	也是 OATPs,MRP2 和 MRP3 底物
	洛哌丁胺(loperamide)	
	奎尼丁(quinidine)	
	他林洛尔(talinolol)	也是 MRP2 底物
	长春碱(vinblastine)	也是 MRP2 底物

BCRP	2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]吡啶(2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine)	也是 MRP2 和 P-gp 底物
	考迈斯托醇(coumestrol)	
	大豆甙元(daidzein)	
	丹曲林(dantrolene)	
	雌酮-3-硫酸酯(estrone-3-sulfate)	也是 OATPs 和 NTCP (Sodium Taurocholate Cotransporting Polypeptide) 底物
	染料木素(genistein)	
	哌唑嗪(prazosin)	也是 P-gp 底物
	柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)	
OATP1B1, OATP1B3	cck-8(cholecystokinin octapeptide)	OATP1B3 的选择性底物 (相比于 OATP1B1)
	雌二醇 17 β -葡萄糖醛酸苷(estradiol-17 β -glucuronide)	
	雌酮 3-硫酸酯(estrone-3-sulfate)	OATP1B1 的选择性底物 (相比于 OATP1B3)
	匹伐他汀(pitavastatin)	也是 MRP2, P-gp 和 NTCP 底物。OATP1B1 的选择性底物 (相比于 OATP1B3)
	普伐他汀(pravastatin)	也是 MRP2, OAT3 和 NTCP 底物。
	替米沙坦(telmisartan)	OATP1B1 的选择性底物 (相比于 OATP1B3)
	瑞舒伐他汀(rosuvastatin)	也是 MRP2, OAT3, NTCP 和 BCRP 底物
OAT1	阿德福韦(adefovir)	
	对氨基马尿酸(p-aminohippurate)	
	西多福韦(cidofovir)	
	替诺福韦(tenofovir)	
OAT3	苄甲青霉素(benzylpenicillin)	也是 OATPs 底物
	雌酮 3-硫酸酯	也是 BCRP 和 OATP1B1 底物
	普伐他汀 (pravastatin)	也是 OATPs 和 MRP2 底物
MATE1, MATE2-K	二甲双胍(metformin)	OCTs 和 MATEs 底物
	1-甲基-4-苄基吡啶 (1-methyl-4-phenylpyridinium(MPP+))	OCTs 和 MATEs 底物
	四乙基氯化铵 (tetraethylammonium (TEA))	OCTs 和 MATEs 底物
OCT2	二甲双胍	OCTs 和 MATEs 底物
	1-甲基-4-苄基吡啶	OCTs 和 MATEs 底物
	四乙基氯化铵	OCTs 和 MATEs 底物

表 9 体外试验可选择的转运体抑制剂

转运体	抑制剂	备注
P-gp	环孢素 A (cyclosporine A)	也是 MRP2, BCRP, NTCP 和 OATPs 抑制剂
	依克立达(elacridar,GF120918)	也是 BCRP 抑制剂
	酮康唑(ketoconazole(c)	也是 NTCP 抑制剂
	奎尼丁(quinidine)	也是 OCTs 抑制剂
	利血平(reserpine)	也是 MRP2 抑制剂
	利托那韦(ritonavir)	也是 OATPs 抑制剂
	他克莫司(tacrolimus)	也是 OATPs 抑制剂
	伐司扑达 (valspodar, PSC833)	也是 MRP2 抑制剂
	维拉帕米(verapamil)	也是 OCTs 抑制剂
	唑喹达(zosuquidar (LY 335979))	
BCRP	依克立达(elacridar,GF120918)	也是 P-gp 抑制剂
	烟曲霉毒素 C(fumitremorgin C)	
	Ko134	
	Ko143	
	新生霉素(novobiocin)	
	柳氮磺胺嘧啶(sulfasalazine)	
OATP1B1 OATP1B3	环孢素 A	也是 MRP2, BCRP, NTCP 和 P-gp 抑制剂, 预温孵增加其抑制作用。
	雌二醇 17β葡萄糖醛酸苷(estradiol-17β-glucuronide)	也是 MRP2 和 BCRP 抑制剂
	雌酮 3-硫酸酯(estrone-3-sulfate)	也是 BCRP 和 NTCP 抑制剂
	利福平(rifampicin)	
	利福霉素(rifamycin sv)	
OAT1 OAT3	苄甲青霉素(benzylpenicillin)	
	丙磺舒(probenecid)	也是 OATPs 抑制剂
MATE1 MATE2-K	西咪替丁(cimetidine)	也是 OCTs 和 OAT3 抑制剂
	乙胺嘧啶(pyrimethamine)	
OCT2	西咪替丁(cimetidine)	预温孵增加其抑制作用

表 10 临床试验可选择的转运体指针底物

转运体	底物	备注
P-gp	达比加群酯(dabigatran etexilate)	
	非索非那丁(fexofenadine)	也是 OATP1B 底物
	地高辛(digoxin)	
BCRP	柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)	
	瑞舒伐他汀(rosuvastatin)	也是 OAT3 和 OATP 底物
OATP1B1 OATP1B3	普伐他汀(pravastatin)	
	瑞格列奈(repaglinide)	
	阿托伐他汀(atorvastatin)	P-gp, BCRP, MRP2 和 CYP3A 底物

	波生坦(bosentan)	
	阿舒瑞韦(asunaprevir)	
	丹诺普韦(danoprevir)	
	瑞舒伐他汀(rosuvastatin)	OATP1B1 的选择性底物（相比于 OATP1B3）
	多西他赛（docetaxel）	
	非索非那定（fexofenadine）	
	格列本脲（glyburide）	
	那格列奈（nateglinide）	
	紫杉醇（paclitaxel）	
	匹伐他汀（pitavastatin）	
	辛伐他汀酸（simvastatin acid）	
OAT1 OAT3	阿德福韦(adefovir)	OAT1 的选择性底物（相比于 OAT3）
	头孢克洛(cefaclor)	
	头孢唑林(ceftizoxime)	
	呋塞米(furosemide)	
	更昔洛韦(ganciclovir)	OAT1 的选择性底物（相比于 OAT3）
	法莫替丁（famotidine）	
	甲氨蝶呤（methotrexate）	
	奥司他韦羧化物（oseltamivir carboxylate）	OAT3 的选择性底物（相比于 OAT1）
MATE1, MATE2-K OCT2	二甲双胍(metformin)	

表 11 临床试验可选择的转运体抑制剂

转运体	抑制剂	备注
P-gp	雷诺嗪(ranolazine)	也抑制 OCT2 活性
	维拉帕米(verapamil)	也抑制 OCT2 和 CYP3A4 活性
	伊曲康唑(itraconazole)	也抑制 CYP3A4 和 BCRP 活性
	克拉霉素(clarithromycin)	也抑制 OATPs 和 CYP3A4 活性
	奎尼丁(quinidine)	也抑制 OCT2 和 CYP3A4 活性
	利托那韦(ritonavir)	也抑制 OATPs 和 CYP3A4 活性
	替拉那韦(telaprevir)	也抑制 OATPs 和 CYP3A4 活性
	沙奎那韦(saquinavir)+利托那韦(ritonavir)	也抑制 OATPs 和 CYP3A4 活性
BCRP	姜黄素(curcumin)	
	艾曲波帕(eltrombopag)	
	环孢素 A (cyclosporine A)	对多种转运体均有强抑制作用
OATP1B1 OATP1B3	吉非贝齐(gemfibrozil)	对 CYP2C8 和 OAT3 有抑制作用。其葡萄糖醛酸结合物也抑制 CYP2C8 和 OATP1B1

	利福平(rifampicin)	单剂量给药
	环孢素 A	对多种转运体均有强抑制作用
	克拉霉素 (clarithromycin)	
	红霉素 (erythromycin)	
	西咪匹韦 (simeprevir)	
OAT1 OAT3	对氨基马尿酸(p-aminohippuric acid)	主要抑制 OAT1 活性,
	丙磺舒(probenecid)	也抑制 MRP2 活性
	特立氟胺(teriflunomide)	
OCT2 MATE1 MATE2-K	西咪替丁(cimetidine)	对 MATE 抑制作用强于 OCT2。
	甲氧苄氨嘧啶(trimethoprim)	对 MATE 抑制作用强于 OCT2
	杜鲁特韦(dolutegravir)	对 OCT2 抑制作用强于 MATEs
	凡德他尼(vandetanib)	对 MATE 抑制作用强于 OCT2
	雷诺嗪(ranolazine)	MATE 和 OCT2 抑制作用相当
	艾沙康唑(isavuconazole)	对 P-gp 和 BCRP 有一定抑制作用