

# 治疗性蛋白药物临床药代动力学研究 技术指导原则

2021年2月

# 目 录

一、概述.....	1
二、研究内容.....	1
(一) 药代动力学特征.....	1
1. 吸收.....	2
2. 分布.....	3
3. 消除.....	4
4. 其他相关问题.....	5
(1) 剂量和时间依赖性.....	5
(2) 蛋白质的修饰.....	6
(3) 变异性.....	6
(4) 免疫原性.....	7
(二) 特殊人群.....	8
(三) PK/PD 关系.....	9
(四) 相互作用研究.....	10
三、生物分析.....	11
(一) 一般考虑.....	11
(二) 方法学相关问题.....	12
1. 分析方法.....	12
2. 标准品.....	13
3. 内源性物质浓度.....	13
四、参考资料.....	14

# 治疗性蛋白药物临床药代动力学研究技术指导原则

## 一、概述

治疗性蛋白药物是一类以分子量不同的多肽到蛋白质为基本构成的生物制品。治疗性蛋白药物和小分子药物的药代动力学（PK）研究目的一致，主要目的之一是为患者用药的有效性和安全性提供依据。因此，治疗性蛋白药物的PK应与传统小分子药物以相同的科学依据进行评估。但是，由于治疗性蛋白药物的特性，与传统小分子相比，在PK研究设计时应予特别考虑。本指导原则旨在关注治疗性蛋白药物与传统小分子药物之间PK特征的差异，阐明治疗性蛋白药物临床PK评估时需考虑的要点，对治疗性蛋白药物PK的研究方案提出建议。

本指导原则主要适用于治疗性蛋白药物的临床研发。应用本指导原则时，还请同时参考药物临床试验质量管理规范（GCP）、国际人用药品注册技术协调会（ICH）和其他已发布的相关指导原则。

本指导原则仅代表药品监管部门当前的观点和认识，随着科学研究的进展，本指导原则中的相关内容将不断完善与更新。

## 二、研究内容

### （一）药代动力学特征

通常，治疗性蛋白药物在评价 PK 方面的要求与传统小分子药物相同，但需要对其固有特性予以特殊考虑。建议在相关人群中，采用单剂量和/或多剂量给药表征治疗性蛋白药物的 PK 特征（吸收、分布和消除）。但根据治疗性蛋白药物的类型及其适应症，PK 要求会有所不同。

治疗性蛋白药物的 PK 研究应贯穿临床试验的各阶段，逐步收集数据以充分描述产生药物效应（药效及临床安全性事件相关）的物质基础的特征。关于样本量，建议根据不同研究目的，结合产品特征，以可获得目标剂量下稳健的 PK 数据为基本原则，考虑纳入目标受试人群的例数。

在健康受试者研究中获得的 PK 结果，外推到目标患者人群时需进行论证。由于某些治疗性蛋白药物的消除在很大程度上取决于靶受体的摄取，健康受试者和目标患者人群之间受体密度的差异（例如肿瘤或炎症组织中受体的过度表达）可能会导致重要的 PK 特征（如半衰期等）产生差异，采用健康受试者数据预测患者人群数据时应充分考虑该问题。

本文“代谢物”一词包括体内降解产物和其他截短形式的蛋白质。

## 1. 吸收

应在健康受试者或患者中开展适当的体内研究，描述药物的吸收特征，即吸收的速度和程度。单剂量研究通常足以描述吸收特征，也可用以比较不同给药途径的吸收情

况。

由于生物利用度低，故用于治疗系统性疾病的口服给药的治疗性蛋白药物较少。大多数治疗性蛋白药物通过静脉注射、皮下注射或肌肉注射途径进行肠道外给药。给药途径的变化可能改变药物的 PK 和免疫原性。皮下给药后，药物通过淋巴系统可能会产生体循环前消除，因此获得的生物利用度低于 100%。通过淋巴回流而回收的蛋白质与分子量大小有关，分子量小的蛋白药物可能会通过首过机制在组织中发生蛋白水解性降解；而分子量较大的蛋白药物皮下给药时，在吸收过程中淋巴转运起重要作用。不同给药部位（如上臂、大腿、腹部）的生物利用度可能有所不同，如果需要不同部位给药，则应针对每个给药部位的相对生物利用度进行临床研究。对生物利用度影响的其他考虑因素还包括注射深度、注射浓度、注射体积和患者特异性因素等。

## 2. 分布

稳态分布容积 ( $V_{ss}$ ) 与分子量呈负相关，渗透性与分子量也有类似的关系。对于分子量较大的蛋白药物， $V_{ss}$  与白蛋白的分布相近（约 0.1 L/kg）。与传统小分子药物不同，蛋白药物分布到组织（即细胞摄取）通常是消除过程的一部分，而非分布过程的一部分，这种看似分布实为消除的过程是其分布容积较小的原因之一。因此， $V_{ss}$  低不一定代表低组织渗透性，可能由于受体介导的摄取，在单一靶器官中已达到足

够浓度。建议结合非临床 PK 研究结果，了解药物在体内的主要分布组织，特别是在效应靶器官和毒性靶器官的分布及其通过生物膜屏障的情况。

有些治疗性蛋白药物进入血液后与血液成分结合，例如可溶性受体，可能会通过改变分布和/或清除而改变其 PK 特征。由于受试者体循环受体水平的个体差异，治疗性蛋白药物与可溶性受体结合后可能导致个体间 PK 参数变异性的增加。可溶性受体水平随时间的变化也可能导致药物的 PK 特征呈现时间依赖性变化。可采用适当的方法，在给药前和给药期间测定可溶性受体的水平，同时区分游离型受体和结合型受体，并评估其对药物 PK 的影响及与临床效应的相关性。

当治疗性蛋白药物结合血浆蛋白（白蛋白， $\alpha$ -酸性糖蛋白）能力与其 PK 相关时，应予以研究。某些特异性结合蛋白可能影响一些治疗性蛋白药物的 PK，如生长激素（GH）与生长激素结合蛋白结合，胰岛素样生长因子（IGF-1）与血浆中的载体蛋白结合。

### 3. 消除

在进行 PK 研究时应首先明确药物的主要消除途径。对于治疗性蛋白药物来说，在很大程度上可以通过分子量大小预测消除途径。通常，蛋白质的分解代谢是经水解作用发生。分子量 $<69\text{kDa}$  的小蛋白通过肾脏滤过被消除（随着分子量的降低，肾滤过作用越来越重要），随后被肾小管重吸收和次

级代谢分解；对于分子量较大的治疗性蛋白药物，在水解作用之外主要通过在其他组织和/或靶细胞中受体介导的内吞后再分解代谢进行消除。

治疗性蛋白药物大多以代谢物的形式排出体外，一般极少以原形排出体外，体内降解的终极产物为氨基酸，并参与体内氨基酸循环。所以，物质平衡研究对确定治疗性蛋白药物的代谢及排泄方式一般意义不大。

针对其消除和代谢的特定研究（如微粒体、全细胞或组织匀浆研究）以及体外代谢物鉴定的必要性和可行性，应视具体情况而定。

与母体药物相比，代谢物可能具有不同的 **PK** 特征，应结合研究目的及可行性考虑，对有药效活性的代谢物进行测定。此外，治疗性蛋白药物的活性不仅与血浆中的游离成分有关，还与结合部分以及结合动力学有关，因而需明确生物分析中分析物的具体形态。

#### **4. 其他相关问题**

##### **(1) 剂量和时间依赖性**

治疗性蛋白药物的剂量-浓度关系可能是不成比例的，这取决于容量限制对药物分布和消除的相对影响。例如在一些抗体药物中，在较低的剂量范围内饱和消除途径即可占主导地位。应在单剂量或多剂量研究中评估剂量-暴露比例关系，并对临床 **PK** 结果进行讨论。

当与治疗性蛋白药物消除相关的受体下调或上调，或形成了抗药性抗体时，多剂量给药研究期间 PK 参数可能会随时间发生改变。具有免疫活性、但由于半衰期长而缓慢积累的代谢物可能存在明显的时间依赖性。PK 对时间的依赖性也可能出现在疾病的自然进程中。所以在长期研究中，建议在各个剂量水平和各种情况下进行 PK 探索，可考虑对长期试验的 PK 数据进行群体药代动力学（PopPK）分析。

## （2）蛋白质的修饰

蛋白质结构的修饰可用以改变治疗性蛋白药物的 PK 特征，通常是为了延长半衰期（例如聚乙二醇化（PEG）修饰），有时会使几种蛋白质异构体表现出不同的 PK 和药效学（PD）特征。同样，生产工艺中改变糖基化模式和/或唾液酸含量有可能改变药物的 PK 和/或 PD 特征。如果出现异构体，同时研究结果提示异构体的 PK 特征及活性可能显著不同时，建议进一步研究。

## （3）变异性

应评估受试者个体间的变异性，尽量明确变异性的重要来源，如体重、性别和年龄等人口学以及疾病相关因素。治疗性蛋白药物特有的受试者个体间变异性的潜在来源包括抗药抗体（ADA）的形成、吸收的变异性（如注射部位的差异）、血液中结合成分的不同水平、靶部位负荷的变异性（如肿瘤负荷）、降解速率（如去 PEG）或降解方式的差异。

对于多剂量给药的药物，应对个体内的变异程度予以关注。建议研究不同情况下的变异性，尤其是安全性风险较高、推荐滴定给药的药物。个体内变异性应排除因分析方法精确度低导致的个体内变异估值偏高的情况。

#### (4) 免疫原性

对很多蛋白质和肽类药物，部分患者会产生临床相关的抗药抗体。针对治疗性蛋白药物的免疫反应因药物不同而不同，潜在的免疫原性（新抗原性）受多种因素影响，主要包括患者相关因素和药物相关因素。通常无法通过动物研究准确预测人体内抗体反应。免疫反应还可能取决于给药剂量和给药途径，如皮下注射可能比静脉给药更容易产生免疫原性。由于一个个体可能会产生具有不同亲和力、抗原表位和结合能力的多种抗体，因此可能会观察到抗体反应的异质性，所以应该从足够数量的患者中收集数据，以表征抗体反应的异质性。

ADA 可能改变治疗性蛋白药物的 PK 和 PD。当存在药物相关的抗体反应时，应研究 ADA 对治疗性蛋白药物 PK 的影响，这对于需要多剂量给药或长期治疗的新药尤为重要。

一般只有中和抗体可以直接改变 PD 作用，但无论中和能力如何，ADA 都可能会影响治疗性蛋白药物 PK，抗体的形成可以引起治疗性蛋白药物的清除率增高或降低（通常为前者）。因此，ADA 引起的临床效应改变可能是 PK 和 PD 综

合改变的结果。

## **(二) 特殊人群**

临床开发计划应包括可支持在特殊人群（如肝、肾功能损伤的患者）中使用的相应研究，以便指导此类患者的剂量调整。应基于药物的消除特性决定是否必要开展某项研究，如果未进行任何特殊人群的相关研究，申请人应提出合理依据。应提供诸如年龄、体重、性别、种族等内在因素的影响信息，上述信息可以来自特殊人群的独立研究，也可以来自对 II/III 期临床试验数据的 PopPK 分析。

**肾损伤：**对于分子量低于 69kDa 的蛋白质，肾脏排泄对其消除过程和半衰期可能非常重要，且分子量越小影响越显著。因此，对于这些治疗性蛋白药物，建议在肾损伤患者中进行 PK 研究。对于完整的单克隆抗体药物（分子量约 150 kDa）主要不经肾脏消除，经评估如肾脏损伤可能不会显著改变其 PK，可不开展在肾损伤患者中的 PK 研究。但在特定情况下，肾功能减退或潜在的肾功能减退可能会影响治疗靶点的表达或浓度，进而影响治疗性蛋白药物的 PK/PD 特征，因此在临床药理学研究计划中应对此予以考虑。

根据对试验药物的前期研究和预期评估，结合治疗性蛋白药物的分子量和作用机制，可选择适当的研究评价肾功能损伤对 PK 行为的影响。在评价肾损伤对 PK 影响时，有两种常用的指标，一种是估计肌酐清除率（Cl<sub>cr</sub>），另一种是估

算肾小球滤过率（eGFR），均可用于确定受试者肾功能损伤的分组或分期。同时，还需根据试验药物的目标患者人群及药物特性，考虑是否需评价透析对药物 PK 行为的影响。

另外，如果治疗性蛋白药物的活性由多种物质（例如代谢产物，异构体）产生，且每种物质的活性不同，由于肾脏清除率的差异，其相对含量可能随着肾功能的不同而变化。如果这些物质采用免疫分析法测定时呈现相似的亲和力，则采用生物检定法测定总活性数据会更有意义。

**肝损伤：**治疗性蛋白药物在全身各组织均可发生非特异消除，如果肝脏降解是蛋白药物的主要消除途径，肝功能减退（主要是肝脏疾病引起的肝损伤）可能会影响治疗性蛋白药物的 PK 行为。可对肝损伤患者开展单一的 PK 研究，或在其他研究中加入肝损伤的评价，也可利用 PopPK 分析来评价肝损伤对治疗性蛋白药物的 PK 影响。需注意的是，目前单一的肝功能标志物可能无法可靠地评估肝功能，应综合评估受试者的 Child-Pugh 评分或其他相似的肝功能评价指标。

关于肾损伤和肝损伤的具体研究要求可参考相应的指导原则。

### **（三）PK/PD关系**

PK/PD 关系研究是药物研发中非常重要的一个方面。由于治疗性蛋白药物的 PK 特征和 PD 反应均可能会因分子修饰或其生产表达系统的变化、与血液成分的结合或抗药性抗

体的形成等发生改变，因此，建议对药物 PK/PD 关系进行评价，尤其是在同一项研究中获得的 PK/PD 指标数据可能更有意义。

可采用合适的模型评估早期的临床前和临床数据，以理解疾病机制和 PK/PD 关系。PK/PD 模型可以解释血药浓度和有效性之间的时滞性，该模型可能还需要考虑治疗靶点的 PK。PK/PD 模型可根据已建立的适当假设（例如生理、病理因素）从健康受试者外推到目标患者人群。这些模型可以为剂量选择提供一定指导，并有助于解释各亚组人群的 PK 差异。鼓励探索相关的生物标志物及其与安全性和有效性终点的联系（替代指标）。

另外，制剂或生产工艺中的变化可能改变其 PK 和免疫原性。在某些情况下，初始和修饰后产品的物理化学和体外生物学分析不足以排除上述变化对安全性和有效性的影响，因此充分了解 PK 以及药物浓度与有效性和安全性之间关系可能会减少一些临床研究的需求。

#### **（四）相互作用研究**

对于治疗性蛋白药物，其体内药物相互作用研究的要求通常低于传统化学药物。然而，某些治疗性蛋白药物（例如促炎细胞因子或细胞因子调节剂）可以不同程度地影响特定 CYP 酶和/或药物转运体的表达和稳定性，是否需要开展药物相互作用研究应视情况而定。

治疗性蛋白药物通常不以 CYP 酶介导的代谢或转运体介导的转运作为其消除途径，故小分子药物通过上述途径影响治疗性蛋白药物的可能性较低。然而，小分子药物可能通过对机体免疫系统的作用影响治疗性蛋白药物的消除（例如免疫抑制剂甲氨蝶呤可以改变合用单抗药物的消除）。此外，还应考虑联合用药对靶受体表达或结合的影响，以及对人体生理过程的影响，进而改变联合使用药物的 PK 特征。

关于药物相互作用的具体研究要求可参考相应的指导原则。

### **三、生物分析**

生物分析方法是PK和PD研究的关键要素之一。分析方法除需具备在复杂生物基质中检出和监测（追踪）被分析物（母体药物和/或代谢物）的能力外，同时还应满足特异性、灵敏度、准确度和精密度以及适当的定量范围等要求。选择分析方法的一个重要指标是能够区分外源性给予蛋白及其内源性产生的对应物。

#### **（一）一般考虑**

生物样品中治疗性蛋白药物常用的分析方法有：1)配体结合分析(如免疫分析法)，测定与目标分子结合的分析物的量。2)生物检定法，测定药物在特定生物学过程中的活性。3)液相色谱-质谱法（LC-MS）。配体结合分析能够检测结构

相关的分析物，包括活性物质和非活性物质；生物检定法仅能检测活性物质，可以是原形药物或其代谢物，以及任何其他形式的结构相关物质，包括内源性蛋白；LC-MS法则具有高特异性、高重现性以及提供与定量信息相关的结构信息的能力。在临床研究中可根据研究目的和药物特性选择合适的测定方法，可将几种分析方法结合使用。一般情况下，建议在研发早期开发特定的分析方法，并在整个研发过程中尽量使用同一分析方法。拟定的分析方法应根据相关技术指南进行充分验证。

## **(二) 方法学相关问题**

关于该类药物的分析方法，以免疫分析法、生物检定法为例，建议申请人应考虑包括但不限于以下问题：

### **1. 分析方法**

#### **免疫分析法：**

(1) 除药物本身外，其他免疫反应产物也具有不同程度的生物活性，例如异构体、降解产物（生产或储存过程中形成）、体内代谢物、药物和互补性分子形成的复合物（例如结合蛋白）。这些免疫反应产物的干扰，可能会导致捕获抗体无法区分活性分析物与干扰物质。

(2) 不同的免疫反应组分，由于其结合能力或亲和力的差异，可能会导致其对测定的响应不同。例如针对重组人粒细胞集落刺激因子（rhG-CSF）开发的酶联免疫吸附分析法

(ELISA)对PEG-rhG-CSF的敏感性较低,并且其与PEG-rhG-CSF位置异构体的亲和力也有所不同。

(3) 内源性物质的干扰。

(4) 血浆/血清成分或ADA的产生,可能会抑制分析物与捕获抗体的结合。

(5) ADA测定: 进行ADA检测时,应确保方法具有足够的药物耐受性。

### **生物检定法:**

(1) 生物检定法对于被分析物可能不是特异的。

(2) 与免疫分析法相比,生物检定法的灵敏度和精密度可能较低。

(3) 血浆/血清成分(如结合蛋白、抑制物或药物抗体)的存在可能改变被分析物的活性。

(4) 针对天然蛋白建立的生物检定法用于检测其对应的重组蛋白时结果可能会产生偏差。

## **2. 标准品**

对于治疗性蛋白药物,制备高纯度的标准品有时存在一定难度。但需要注意,在不同的分析过程使用的标准品应能够代表临床试验(包括临床PK)中的产品。

## **3. 内源性物质浓度**

某些治疗性蛋白药物会受到其内源性浓度的影响,该影响可能呈现周期变化,或者根据特定信号产生。由于PD效应

与蛋白质的总浓度有关，因此需要厘清外源性治疗性蛋白药物的浓度与内源性浓度的关系。试验过程中应尽可能明确内源性物质浓度-时间曲线，或者选择能够处理内源性浓度的方法。此外，还应关注健康受试者和患者之间、亚组人群之间内源性浓度的时间曲线差异。

#### **四、参考资料**

1. 国家食品药品监督管理总局. 药物临床试验的一般考虑指导原则. 2017-01.
2. European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins. 2007-01.
3. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry. Pharmacokinetics in Patients with Impaired Hepatic Function: Study Design, Data Analysis, and Impact on Dosing and Labeling. 2003-05.
4. European Medicines Agency. Guideline on the evaluation of the pharmacokinetics of medicinal products in patients with impaired hepatic function. 2005-02.
5. Yang J, Shord S, Zhao H, et al. Are Hepatic Impairment Studies Necessary for Therapeutic Proteins?[J] Clinical Therapeutics. 2013, 35(9): 1444-1451.
6. European Medicines Agency. Guideline on the evaluation of the pharmacokinetics of medicinal products in patients with

- decreased renal function. 2015-10.
7. 国家食品药品监督管理总局. 生物类似药研发与评价技术指导原则. 2015-02.
  8. European Medicines Agency. Guideline on Immunogenicity assessment of therapeutic proteins. 2017-05.
  9. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry. Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products. 2014-08.
  10. U.S. Food and Drug Administration. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products—Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection. 2019-01.
  11. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation. 2018-05.
  12. Ryman JT, Meibohm B. Pharmacokinetics of Monoclonal Antibodies[J]. CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol. 2017, 6: 576–588.
  13. Kraynov E and Martin SW. Encyclopedia of Drug Metabolism and Interactions (Therapeutic Protein Drug-Drug Interactions)[M]. John Wiley & Sons, Inc. 2017-10.
  14. Mould DR, Meibohm B. Drug Development of Therapeutic Monoclonal Antibodies[J]. BioDrugs, 2016, 30:275-293.