说明：

1. 本方案设计同时适用于恩替卡韦的预BE及正式BE。

2. 预BE与正式BE在试验过程中主要有以下两点区别：

（1）正式BE样本量为24例，预BE样本量为8例。

（2）正式BE在每周期结束出组时，均需要进行实验室检查；预BE仅第二周期结束时进行实验室检查。

**恩替卡韦片（0.5 mg）生物等效性试验研究方案**

1. **恩替卡韦预BE及正式BE试验的工作内容及相应依据、工作方法、工作流程、实施要点和质量标准**
   1. **工作内容**

恩替卡韦（Entecavir）是由Bristol-Myers Squibb公司开发的一种鸟嘌呤核苷酸类似物，于2005年3月经美国FDA批准上市（商品名，Baraclude）。本品对乙肝病毒（HBV）多聚酶具有抑制作用，在细胞内被磷酸化为具有活性的三磷酸盐，并竞争性抑制HBV多聚酶的天然底物三磷酸脱氧鸟嘌呤核苷。国内外多项临床研究证实，恩替卡韦具有很强的抑制乙型肝炎病毒、降低血清病毒DNA水平的作用，可以有效治疗乙型肝炎，且耐受性良好，具有良好的临床应用前景。

根据现CFDA对于仿制药一致性评价的要求及相关指导原则，本项目主要研究内容为：以健康受试者为试验对象，以BRISTOL MYERS SQUIBB在美国上市的恩替卡韦片（0.5 mg）作为参比制剂，考察江苏利泰尔药业生产的恩替卡韦片（0.5 mg）在人体内的相关药代动力学参数，并进行空腹单剂量等效性评价，为受试制剂的一致性评价提供依据。预试验用以验证分析方法、评估变异程度、优化采样时间，以及获得其他品种相关信息。

本试验采用标准的单中心、两制剂、单次给药、双周期交叉试验设计。

* 1. **工作方法与流程**

本项目将在具有生物等效性试验经验的研究机构进行，CRO公司将派遣有项目经验的CRA进行监查，并为研究机构提供CRC人员进行协助。研究流程主要包括伦理、机构合同及试验阶段，试验期间包含筛选、入住、给药周期、出组，以及试验结束后的样本检测、数据统计、临床总结等流程。

试验开始时，试验研究者向受试者提供书面知情同意书，受试者在自愿的基础上签署知情同意书。知情同意必须写明日期并由受试者本人签署。必须在获得志愿者签署的知情同意书后，方可按筛选指标进行受试者筛选。经筛选符合入选标准且不符合排除标准的24名志愿者作为本试验的受试者入组进行空腹状态下的人体生物等效性试验。按随机表将受试者随机化为I、II两组，进行两制剂、单次给药、双周期交叉试验设计的空腹等效性试验。本试验的安全性评价指标包括：生命体征(包括血压、脉搏及体温)、临床实验室检查及心电图、临床不良事件等。试验过程流程图如下表：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **过程和评价** | **筛选期** | **第一周期** | | | | | **清洗期** | **第二周期** | | | | |
| **D-1入住** | **D1** | **D2** | **D3** | **D4** | **D-1**  **入住** | **D1** | **D2** | **D3** | **D4** |
| 知情同意 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 一般资料登记 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 受试者参加临床试验情况查询 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 健康征询 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 一般体格检查 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 常见毒品检查 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 血尿常规、血生化检查 | X |  |  |  |  | X |  |  |  |  |  | X |
| 凝血检查 | X |  |  |  |  | X |  |  |  |  |  | X |
| 病毒学及梅毒检查 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 心电图 | X |  |  |  |  | X |  |  |  |  |  | X |
| 入选受试者确认 | X |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 入住前询问 |  | X |  |  |  |  |  | X |  |  |  |  |
| 酒精检查 |  | X |  |  |  |  |  | X |  |  |  |  |
| 生命体征监测 |  |  | X | X | X | X |  |  | X | X | X | X |
| 采集血样 |  |  | X | X | X | X |  |  | X | X | X | X |
| 给药 |  |  | X |  |  |  |  |  | X |  |  |  |
| 离开试验病房 |  |  |  |  |  | X |  |  |  |  |  | X |
| 不良事件监测 | X | X  X  X | | | | | | | | | | |
| 合并用药记录 | X | X  X  X | | | | | | | | | | |

* 1. **实施要点**

试验实施过程中，要确保受试者服药、饮食、饮水的依从性。严格执行方案设计的采血时间，制定血样采集记录表。样本处理、储存、运输过程严格按照事先制定的SOP进行。

* 1. **质量标准**

本项目研究参考标准包括但不仅限于：

《药物临床试验质量管理规范》

《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》；

《药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则》；

《化学药物临床药代动力学研究技术指导原则》；

《药物临床试验的生物统计学指导原则》；

《药物临床试验数据管理与统计分析的计划和报告指导原则》

1. **恩替卡韦预BE及正式BE试验方案及具体的难点、关键点**
   1. **试验方案设计及依据**

采用开单中心、两制剂、单次给药、双周期交叉试验设计。

恩替卡韦说明书指出，食物会导致本品的吸收轻微延迟，Cmax降低44-46%，AUC降低18-20%，因此本品应空腹服用。根据《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》中对餐后BE的豁免条件，同时参考FDA关于恩替卡韦生物等效性研究的指导原则（Guidance on Entecavir），本品仅进行空腹生物等效性研究。

**参比制剂选择**

根据《普通口服固体制剂参比制剂选择和确定指导原则》中选择原则三：若原研药品和国际公认的同种药物均未在国内上市，可选择在欧盟、美国、日本上市并被列为参比制剂的药品。BRISTOL MYERS SQUIBB生产的恩替卡韦片被美国橙皮书收载为参比制剂，故本项目的参比制剂选择为BRISTOL MYERS SQUIBB生产的恩替卡韦片。

**受试者选择**

根据《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》中的要求：受试者的选择一般应符合以下要求：人群选择年龄在 18 周岁及以上；应涵盖一般人群的特征，包括年龄、性别等；应有适当的性别比例。根据《药物制剂人体生物利用度和生物等效性试验指导原则》，体重指数BMI一般在19~26kg/m2。

故，本项目受试者选择为：年龄18-65周岁的健康受试者，男女比例适当；体重男性≥50 kg，女性≥45 kg，BMI在19~26kg/m2（包含临界值）。

**受试者例数确定**

根据欧洲恩替卡韦仿制药审评报告资料中一项生物等效性试验结果，本品的Cmax个体内变异系数为17.2%，推测本品为低变异品种。本研究以药动学参数Cmax和AUC为主要评价指标，等效性区间设定为80%~125%，假设单侧α=0.05，把握度1-β=80%，个体内变异系数（Intra-CV）=20%，受试制剂与参比制剂的均值比为0.95~1.05，通过PASS 11.0软件计算，得出最低样本量19例，考虑一定的脱落率最终确定样本量为24例。

**清洗期设定**

本项目清洗期设定为14天。设定清洗期的目的是为了消除制剂间的相互干扰。根据《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》，清洗期应不少于7个消除半衰期。恩替卡韦的终末消除半衰期为128~149h，但考虑本品代谢为双相消除，参考文献报道在中国健康人体内本品的血浆半衰期为11.1~19.1h，故设定清洗期为14天。

**采样周期**

根据生物等效性指导原则，采样时间不短于3个末端消除半衰期。但考虑本品为低变异长半衰期药物，指导原则指出对于长半衰期药物，“如对于药物分布和清除个体内变异较小的药物，可用AUC0-72hr来代替AUC0-t或AUC0-∞”，故本项目结合临床实际可行性，采样周期设定为72h。

**采样点**

恩替卡韦的达峰时间在0.5~1.5h，根据《化学药物临床药代动力学研究技术指导原则》，一个完整的血药浓度-时间曲线应包括药物各时相的采样点，即采样点应包括给药后的吸收相、峰浓度附近和消除相。一般在吸收相至少需要 2~3个采样点，峰浓度附近至少需要3个采样点，消除相至少需要3~5个采样点。基于以上原则，同时保证采样点充分覆盖峰浓度范围以获取准确的峰浓度，本项目采样点设计为：0，10min，20min，30min，40min，50min，1h，1.25h，1.5h，1.75h，2h，2.5h，3h，4h，6h，8h，12h，24h，48h，72h。正式试验可根据预试验结果做进一步调整。

* 1. **具体难点及关键点**

在整个研究过程中，研究者要对受试者进行严格的管理。在研究期间受试者必须遵守研究方案的规定，进食统一中餐、晚餐，给药当日受试者应严格禁食（统一试验餐除外），饮水要按照方案规定要求，确保受试者服药、饮食、饮水的依从性。整个试验期间严禁吸烟、不得饮酒或含酒精的饮料、不得摄取葡萄柚、巧克力及任何含咖啡因（如咖啡、浓茶等）的饮料，未经医生同意不得随便使用试验药物以外的任何药物。在采血期间不能离开I期病房。如出现特殊情况，应如实记录，如符合剔除标准或中止标准者则按方案设定标准处理。

试验过程保证规范、严谨，结果科学可靠，保护受试者权益并保障其安全。保障数据真实、准确、完整、及时、合法地载入原始记录和eCRF中。

1. **本BE研究的质量保证措施**

CRO公司将与研究机构主要研究者制定并确认试验方案。

CRO公司派遣有经验的临床研究监查员(CRA)，监查员对该项研究的所有方面进行监查，以保证数据的真实性与完整性及试验过程的规范性；核实试验用药物按照有关规定进行供应、储藏、分发、收回。监查员应按GCP、SOP及临床试验方案等的要求进行监查，并做相应记录，写出书面监查报告。派遣临床协调员(CRC)，协助研究者进行试验管理，包括协调申报伦理、研究协议签署、实验室样本送样前的整理和记录，试验相关eCRF的录入（保证数据准确、完整、及时、合法地载入eCRF）、受试者管理、资料整理、项目归档及其他经主要研究者授权的非医疗任务等。

1. **附录 恩替卡韦片（0.5 mg）生物等效性试验方案摘要**

|  |  |
| --- | --- |
| 研究药物 | 恩替卡韦（0.5 mg） |
| 研究名称 | 单中心、随机、开放、双周期、双交叉设计评价健康受试者空腹单次口服0.5 mg恩替卡韦片的人体生物等效性试验 |
| 试验目的 | 以健康受试者为试验对象，采用随机自身交叉对照试验方法，以BRISTOL MYERS SQUIBB生产的恩替卡韦片(规格0.5 mg)为参比制剂，江苏利泰尔药业公司生产的恩替卡韦片(规格0.5 mg)为受试制剂，依据相关生物等效性试验规定，评估受试制剂、参比制剂作用于空腹状态下中国健康受试者的生物等效性，为受试制剂的一致性评价提供依据。 |
| 受试者例数 | 健康受试者24例 |
| 入选标准 | 1. 受试者充分了解试验目的、性质、方法以及可能发生的不良反应，自愿作为受试者，并在任何研究程序开始前签署知情同意书； 2. 年龄为18~65岁（包括18岁和65岁）的健康男性和女性受试者，性别比例适当； 3. 男性体重≥50.0 kg，女性体重≥45.0 kg，体重指数（BMI）在19.0~26.0 kg/m2范围内（包括临界值）；   4) 受试者无心血管、肝脏、肾脏、呼吸、血液和淋巴、内分泌、免疫、精神、神经、胃肠道系统等慢性疾病史或严重疾病史，并且总体健康状况良好；  5）无药物（包括但不限于恩替卡韦及恩替卡韦片赋型剂中任何组份）过敏史；  6) 体格检查、实验室检查及辅助检查结果均应在正常范围内或临床医生判断为“无临床意义”的异常；  7）常见毒品检查符合要求；  8）病毒学检查（乙肝表面抗原、丙型肝炎抗体、人类免疫缺陷病毒）及梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验筛选阴性。 |
| 排除标准 | 1) 育龄志愿者不能承诺从筛选日起的未来3个月内无生育计划且自愿采取非药物性避孕措施（药物性避孕措施包括口服避孕药、避孕针、皮下埋植避孕法、局部避孕药物如杀精剂等）者；  2) 筛选前2周内服用过任何药物；  3) 对饮食有特殊要求，试验期间不能遵守统一饮食；  4) 有吸毒史或/和药物滥用史者；  5) 3个月内每日吸烟量大于5支，筛选前6个月内每周饮酒量大于28单位酒精(1单位酒精=285mL啤酒或25mL酒精含量为40%的烈酒或150 mL葡萄酒)；  6) 3个月内参加献血或其他原因大量失血（> 450 mL）或计划在研究期间或研究结束后1周内献血或血液成份者；  7) 肌酐清除率小于50mL/min者；  8) 筛选前1个月内，参加过其他临床试验者；  9) 有吞咽困难；  10) 不能忍受静脉穿刺和/或有晕血、晕针史；  11) 不能承诺在研究开始前48 h至研究结束期间不吸烟、不服用含咖啡因（如咖啡、浓茶等）的食物或饮料或果汁/葡萄柚汁以及任何含酒精的产品的志愿者；  12) 经研究者判断不宜参加本研究的其他情况（含受试者参加试验情况查询结果判断）。 |
| 剔除标准 | 1)入组后至第一周期服药前发现不符合入选标准，符合排除标准的受试者。  2)入组后至第一周期服药前由于任何原因脱落的受试者。  3) 入组后至试验第一周期未服用试验用药物的受试者。  4)在筛选后至第一周期服药前服用了任何药物的受试者。  5)受试者在筛选后至第一周期服药前身体不适，经研究者判断不能参加试验者。  6)试验第一周期入住当天酒精筛查表明为饮酒者。 |
| 中止标准 | 1)服药后因任何原因（包括但不限于因出现严重不良事件或不良事件，经研究者判断需退出试验；受试者要求退出或无故退出试验等）未完成完整的采血点采血的受试者。  2) 试验第二周期未服用试验用药物的受试者。  3) 试验第二周期入住当天酒精筛查表明为饮酒的受试者。  4) 试验期间不能接受I期病房管理制度的受试者。  5) 服药后约4小时内发生呕吐的受试者。  6) 在试验期间使用非试验药物，经研究者判定不适合继续试验者。  7) 临床研究者认为受试者不适合继续试验的其他情况。 |
| 给药剂量 | 每周期单次口服1片(0.5 mg)受试制剂或参比制剂 |
| 给药方法 | 约240mL温开水送服 |
| 试验方法 | 24例受试者随机分成I组和II组。  第一周期  受试者入住后进行酒精呼气测试，测量生命体征（血压、脉搏、体温），结果合格者参加试验。给药当天早晨受试者空腹静脉埋留置针，后服药（隔夜禁食至少10个小时），I组受试者空腹服用受试制剂1片，II组受试者空腹服用参比制剂1片，约240mL 温开水送服，服药后研究者对受试者的口腔和手进行检查以确保药物已被吞咽。服药前1h至服药后1h不得饮水，其他时间自由饮水。服药后约4小时、10小时后进试验餐。  于给药前(服药前60分钟内，视为0h)和给药后10min，20min，30min，40min，50min，1h，1.25h，1.5h，1.75h，2h，2.5h，3h，4h，6h，8h，12h，24h，48h，72h共20个时间点采集受试者静脉血，每次采血约4mL至冰浴预冷的EDTA-K2抗凝采血管中，轻柔颠倒混合数次，冰浴暂放。  第一周期试验结束经清洗期后进行第二周期试验。除药物交叉（I组受试者空腹服用参比制剂1片，II组受试者空腹服用受试制剂1片）外，其余试验步骤同第一周期。  采用LC-MS/MS法测定受试者口服受试制剂和参比制剂后血浆中恩替卡韦的浓度，计算药动学参数，评价受试制剂与参比制剂在空腹给药条件下的人体生物等效性。 |
| 检测指标 | 血浆中恩替卡韦的浓度。 |
| 评价指标 | 提供恩替卡韦片的每个受试者的主要药动学参数(Cmax、AUC0-t、AUC0-∞、Tmax和t1/2等)。  进行等效性评价时，以恩替卡韦片的药动学参数作为评价指标，从药物吸收程度和吸收速度两方面进行评价。评价受试者在空腹条件下口服受试和参比制剂后，主要药代动力学参数即血浆中恩替卡韦的AUC0-∞、AUC0-t、Cmax是否符合等效标准。  以生命体征、不良事件、实验室检查值和ECG进行安全性评价。 |
| 统计方法 | 生物等效性分析：  对于经对数转换后的两种制剂血浆中恩替卡韦的AUC0-∞、AUC0-t、Cmax，计算受试制剂与参比制剂的几何均值比及相应的90% CI，采用逆转换计算几何均数比值及其90% CI；计算AUC0-∞、AUC0-t、Cmax的生物利用度。  安全性评价：  主要采用描述性统计。  所有的不良事件(AE)将依据国际医学用语辞典（MedDRA）的编码进行分类，并按照CTCAE 4.03版分级。所有治疗期不良事件(TEAE)、严重不良事件(SAE)、与研究药物相关的TEAEs、与研究药物相关的SAEs和导致试验终止的TEAEs都将按器官系统，首选术语和组别总结人数和百分比。此外，TEAEs的严重程度以及与研究药物的相关性也将按照器官系统，首选术语和组别总结。  按计划时间点和组别对所有实验室检查值、生命体征和心电图以及较基线改变值进行描述性统计分析，并列表呈现异常值。 |
| 判断标准 | 计算受试制剂与参比制剂血浆中恩替卡韦Cmax、AUC0-t和AUC0-∞的几何均值比的90%置信区间。当受试制剂与参比制剂的Cmax、AUC0-t和AUC0-∞的几何均值比的90%置信区间在80.00%-125.00%等效区间内，即可判定两制剂人体生物等效。 |

1. **参考文献：**

[1] Guidance on Entecavir. FDA

[2] Jin J, et al. Bioequivalence evaluation of 2 tablet formulations of entecavir in healthy Chinese volunteers: a single-dose, randomized-sequence, open-lable crossover study. Arzneimittelforschung. 2012, 62(3):113-6.

[3] Entwel 0.5 mg and 1 mg film-coated tablets. NL/H/3859/001-002/DC. Public Assessment Report.