

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

人用药品技术要求国际协调理事会

ICH协调指导原则

药物相互作用研究

M12

终版

2024年5月21日

本版指南依据ICH工作程序，由EWG起草，并面向各监管机构征求意见。在ICH进程的第4阶段，建议ICH成员地区的监管机构接受。

23
24
25

M12 文件历史

代码	历史	日期
M12	由ICH大会成员在第2阶段签署,并公开征求意见。	2022年5月24日
M12	由ICH大会成员在第4阶段签署。	2024年5月21日

26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39

法律通告: 本文件受版权保护,在始终承认ICH版权的前提下,除ICH标志外,可在公共许可下使用、复制、并入其他作品、改编、修改、翻译或分发本文件。如果对文件进行任何改编、修改或翻译,必须采取合理措施明确标注、标明或以其他方式识别对原始文件做出的变更或基于原始文件做出的变更。必须避免给人留下任何印象,即认为原始文件的改编、修改或翻译得到了ICH的认可或赞助。

本文件以“原样”提供,无任何形式的保证。在任何情况下,ICH或原始文件的作者均不对因使用该文件而引起的任何索赔、损害或其他责任负责。

上述许可不适用于第三方提供的内容。因此,对于版权归第三方所有的文件,必须获得该版权所有者的许可方可复制。

40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69

ICH协调指导原则

药物相互作用研究

M12

ICH共识指导原则

目录

1.前言	7
1.1目的	7
1.2背景	7
1.3适用范围	8
1.4一般原则	9
2.体外评价	11
2.1代谢介导的相互作用评价	11
2.1.1作为代谢酶底物的药物	12
2.1.2药物作为CYP酶抑制剂	13
2.1.2.1 可逆性抑制	13
2.1.2.2时间依赖性抑制	15
2.1.3药物作为UGT抑制剂	16
2.1.4药物作为CYP酶诱导剂	17
2.1.4.1基础 “mRNA倍数变化” 法	18
2.1.4.2相关性法	19
2.1.4.3基础动力学模型	20
2.1.4.4与诱导相关的其他注意事项	21
2.2转运体介导的相互作用评估	21
2.2.1药物作为转运体的底物	21
2.2.1.1 数据分析和解释	23
2.2.2 药物作为转运体的抑制剂	24
2.2.3 药物作为转运体的诱导剂	26
2.3 代谢产物的DDI可能性	26
2.3.1 作为底物的代谢产物	26
2.3.2 作为抑制剂的代谢产物	28

70	2.3.3 作为诱导剂的代谢产物	29
71	3. 临床评价	29
72	3.1 临床DDI研究的类型（术语）	29
73	3.1.1 独立和嵌套DDI研究	30
74	3.1.2 指针促变药和指针底物的DDI研究	30
75	3.1.3 预期合并用药的DDI研究	31
76	3.1.4 鸡尾酒法	32
77	3.1.5 生物标志物法	32
78	3.2 临床DDI研究的研究计划和注意事项	33
79	3.2.1 研究设计	33
80	3.2.1.1 研究人群和样本量	33
81	3.2.1.2 剂量	33
82	3.2.1.3 单次或多次给药	34
83	3.2.1.4 制剂和给药途径	35
84	3.2.1.5 平行与交叉试验设计	36
85	3.2.1.6 给药时机	37
86	3.2.1.7 合并用药和其他影响DDI的外因	37
87	3.2.1.8 样本与数据收集	38
88	3.2.2 嵌套DDI研究的特别注意事项	39
89	3.2.3 CYP酶介导的相互作用的注意事项	41
90	3.2.3.1 作为CYP酶底物的在研药物	41
91	3.2.3.2 作为CYP酶抑制剂或诱导剂的在研药物	42
92	3.2.4 评价UGT介导的相互作用的注意事项	43
93	3.2.4.1 作为UGT底物的在研药物	43
94	3.2.4.2 作为UGT抑制剂的在研药物	45
95	3.2.4.3 作为UGT诱导剂的在研药物	45
96	3.2.5 评价转运体介导的相互作用的注意事项	46
97	3.2.5.1 作为转运体底物的在研药物	46
98	3.2.5.2 作为转运体抑制剂的在研药物	48
99	3.2.5.3 作为转运体诱导剂的在研药物	49
100	3.2.6 鸡尾酒法-CYP酶或转运体鸡尾酒法的注意事项	50
101	3.2.7 生物标志物法的基本考虑	50
102	3.2.7.1 在研药物作为肝OATP1B抑制剂	51

103	4. 其他专题.....	52
104	4.1 药物遗传学.....	52
105	4.2 治疗性蛋白药物的DDI.....	54
106	4.2.1 促炎细胞因子相关机制.....	54
107	4.2.2 抗体偶联药物.....	55
108	5. 临床DDI研究结果的报告和解读.....	56
109	5.1 药代动力学数据分析.....	57
110	5.1.1 非房室分析 (NCA).....	57
111	5.1.2 群体PK分析.....	57
112	5.2 DDI结果的报告.....	57
113	5.3 DDI研究结果的解读.....	58
114	5.3.1 无效应界值的确定.....	58
115	5.3.2 在研药物作为DDI促变药: 分类系统.....	59
116	5.3.3 研究结果的外推.....	61
117	5.3.3.1 复杂情况的外推.....	61
118	6. 风险评估和管理.....	63
119	7. 附录.....	64
120	7.1 词汇表.....	64
121	7.2 蛋白结合.....	67
122	7.3 基于代谢的DDI的体外评价.....	68
123	7.3.1 体外系统.....	68
124	7.3.2 在研药物作为酶底物: 反应表型.....	71
125	7.3.2.1 代谢途径鉴定.....	71
126	7.3.2.2 代谢酶鉴定.....	72
127	7.3.3 在研药物作为酶抑制剂.....	73
128	7.3.4 在研药物作为酶诱导剂.....	75
129	7.4 基于转运体的DDI体外评价.....	78
130	7.4.1 体外系统.....	78
131	7.4.2 在研药物作为转运体底物.....	81
132	7.4.3 在研药物作为转运体抑制剂.....	82
133	7.5 预测模型.....	83
134	7.5.1 使用静态机制模型进行DDI预测.....	84
135	7.5.1.1 在研药物作为DDI促变药的评价.....	85

136	7.5.1.2在研药物作为CYP介导DDI的受变药的评价.....	85
137	7.5.1.3转运体介导的DDI的可能性评价.....	88
138	7.5.2使用PBPK模型预测酶或转运体介导的DDI.....	88
139	7.5.2.1PBPK在评价CYP介导的DDI中的潜在应用:.....	89
140	7.5.2.1.1模型考虑-PBPK评价药物作为底物时的CYP相互作用.....	89
141	7.5.2.1.2模型考虑-PBPK评价药物作为促变药的CYP相互作用.....	90
142	7.5.2.2 PBPK在评价转运体介导的DDI中的潜在应用.....	92
143	7.5.2.2.1模型考虑-药物作为转运体底物.....	92
144	7.5.2.2.2模型考虑-药物作为转运体抑制剂.....	92
145	7.6 可用于体外研究的药物列表.....	93
146	7.6.1CYP酶.....	93
147	7.6.1.1 用于体外研究的CYP酶底物.....	93
148	7.6.1.2 用于体外研究的CYP酶促变药.....	95
149	7.6.2 UGT.....	96
150	7.6.2.1 体外研究中的UGT底物.....	97
151	7.6.2.2 体外研究中的UGT抑制剂.....	98
152	7.6.3 转运体.....	99
153	7.7 可用于临床研究的药物列表.....	102
154	7.7.1CYP酶.....	102
155	7.7.1.1用于临床研究的CYP酶底物.....	102
156	7.7.1.2用于临床研究的CYP酶抑制剂.....	105
157	7.7.1.3用于临床研究的CYP酶诱导剂.....	107
158	7.7.2UGTs.....	108
159	7.7.3转运体.....	111
160	7.7.3.1用于临床研究的转运体底物.....	111
161	7.7.3.2用于临床研究的转运体抑制剂.....	115
162	8.参考文献.....	117
163		

1. 前言

1.1 目的

本指导原则为促进在治疗药物研发中设计、开展和解释酶或转运体介导的体外和临床药物相互作用（DDI）研究采用一致的方法提供了建议。一致的方法将减少制药行业在满足多个监管机构要求时面临的不确定性，并使资源得到更有效的利用。另外，本指南引导为同时服用多种药物的患者开发有效安全的治疗方法。

1.2 背景

在临床实践中，常常为患者开具一种以上的药物，这可能导致DDI。对一些患者，尤其是脆弱的老年患者或存在严重或多种健康问题的患者，可能开具多种不同的药物（即多药治疗）。发生DDI是一种常见的临床问题，该问题可增加发生不良事件的风险，有时甚至会导致住院。一些DDI可能降低治疗效果。因此，考察在研药物与其他药物相互作用的可能性很重要。

DDI研究的地区性指导原则已有数十年的历史，并且随着科学的进步，已进行了数次更新。总体而言，各地区对在研药物相互作用的可能性研究的推荐方法相似，但尽管采取了协调措施，仍然存在一些差异。本ICH指导原则旨在协调

对DDI的体外和临床评价的建议。

本指导原则就如何评价在研药物的DDI可能性提供了一般性建议。众所周知，根据特定药物、预期患者人群和治疗背景不同，通常会调整DDI评价策略。如果替代方法得到充分论证，也可以使用。本指导原则主要适用于新药开发过程，但如果在药物获批后获得关于DDI可能性的新的科学信息，则应该考虑进行额外的DDI评价。

1.3适用范围

本指导原则的适用范围仅限于药代动力学相互作用，重点关注代谢酶和转运体介导的相互作用。这些方面通常适用于化学小分子的开发。仅简要介绍了生物制品的DDI评价，重点是单克隆抗体和抗体-药物偶联物。本指南提供了体外和体内（本文中“体内”和“临床”可以互换）代谢酶或转运体介导的抑制或诱导相互作用的研究方法，以及如何将研究结果转化为适当的治疗建议。本指导原则还包括如何评价代谢产物介导的相互作用的建议，同时也涵盖了采用基于模型方法的数据评价和DDI预测。

其他治疗技术的发展和出现，如寡核苷酸、小干扰核糖核酸和肽，得到了认可。但这些内容超出了本指南的范围。建议参考地区性指导原则。

其他类型的药代动力学相互作用，例如对吸收的影响

(如,胃pH值变化、胃动力变化、形成螯合物或络合物等)、食物影响或蛋白结合置换,不属于本文件的范围,建议参照地区性指导原则。同样,药效动力学相互作用导致的DDI也不在本指导原则的范围内。

1.4一般原则

在药物开发过程中,应逐步研究在研药物引起DDI的可能性。应评价在研药物作为受变药(其他药物对在研药物的影响)和作为促变药(在研药物对合并用药的影响)引起药代动力学相互作用的可能性。下文提到的所有方面将在本文后面进一步展开讨论。值得注意,既往指南中一些地区性指南曾经使用“受害药”(本指南称为“受变药”)和“施害药”(本指南称为“促变药”)。因为受变药是代谢酶和转运体的底物,因此本本文中“底物”指代受变药。

评价在研药物作为代谢酶或转运体介导的DDI的受变药的可能性,涉及到确定药物消除的主要途径。如果不是主要以原形药形式经尿液消除的药物,也不是通过非特异性分解代谢消除的生物制品药物,确定主要消除途径的关键是进行良好的临床物质平衡研究。在某些情况下,例如,如果在粪便中发现大部分为原形药,那么绝对生物利用度研究对于帮助解释主要消除途径也是有价值的。使用物质平衡研究的数据,应根据沿特定途径以主要和次要代谢产物形式排泄的药

量，估算不同消除途径的定量贡献。对于重要的定量消除途径，应开展体外和临床研究以确定参与这些消除途径的主要酶或转运体。预测影响在研药物的相互作用的能力取决于对这些蛋白的鉴定。

评价在研药物作为**促变药**的DDI可能性，包括表征药物对酶和转运体的影响。该评价过程通常从体外试验开始，以阐明潜在的DDI机制。然后，在确定DDI风险后，应根据机制进行临床DDI研究，并将研究结果转化为药物作为**DDI促变药**的适当的临床管理建议。

DDI评价的结果为患者的临床研究方案提供了关于合并用药的信息。在药物开发过程中，应尽早获得潜在相互作用的信息，以确保安全性，并避免对合并用药进行不必要的限制，和/或不必要地排除在临床研究中需要合并用药的患者。非临床和临床研究的时间取决于产品的背景和类型；下文给出了一些一般性建议。预测模型（见第7.5节）也有助于评价DDI可能性。

（1）通常应在患者临床研究开始前获得在研药物作为代谢酶底物的体外数据，以评价代谢稳定性以及确定潜在的主要代谢途径和代谢在研药物的酶（反应表型研究）。如果体外研究表明可能与代谢酶的抑制剂或诱导剂发生具有临床意义的相互作用，则最好在患者临床研究之前进行额外的研究（例如，专门的临

床DDI研究)。在开展额外研究之前,可能需要采取保守策略,例如排除接受某些抑制剂或诱导剂合并用药的患者。

(2) ADME(吸收、分布、代谢和排泄)特性决定了是否应收集在研药物作为转运体底物的体外数据。如果药物的吸收有限或预期会以原形药的形式发生显著的肝脏主动摄取、胆汁分泌或肾脏主动分泌,则在对患者开始临床研究前,应在体外确定相关转运体,以避免方案受限。在患者中开展大规模研究前,通常应获得在研药物作为促变药对主要细胞色素P450(CYP)酶和转运体影响的体外数据。

(3) 通常应在III期研究开始前获得物质平衡研究的结果。根据物质平衡研究和体外研究的结果,应考虑使用指针酶强抑制剂和诱导剂进行临床研究,以确认主要代谢途径,并确定具有临床意义的DDI风险。对于血浆暴露量高或药理活性显著的代谢产物,应与原形药相似地考虑药代动力学DDI可能性(详见2.3),但这些研究通常可在开发后期完成,此时已获得更多关于代谢产物暴露量和活性的信息。

2. 体外评价

2.1 代谢介导的相互作用评价

体外研究是通过药物对代谢酶的抑制或诱导作用确定药物作为DDI受变药或促变药风险的首要步骤

2.1.1 作为代谢酶底物的药物

通常，在药物开发早期进行体外筛选，以确定参与新药代谢的主要代谢酶。如果氧化代谢很重要，通常首先使用体外表型分析试验确定在研药物是否是参与药物代谢的最常见CYP酶(CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6和CYP3A)的体外底物。如果发现药物不是通过这些主要CYP酶介导代谢的，则可研究其他代谢酶。其他酶包括但不限于：

(1) 其他CYP酶，包括CYP2A6、CYP2E1、CYP2J2和CYP4F2，以及其他I相代谢酶，包括醇/醛脱氢酶(ADH/ALDH)、醛氧化酶(AO)、羧酸酯酶(CES)、黄素单加氧酶(FMO)、单胺氧化酶(MAO)和黄嘌呤氧化酶(XO)。

(2) II相代谢酶：最常评价的II相代谢酶尿苷5'-二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UDP-葡萄糖醛酸转移酶,UGT)，参与药物和代谢产物的葡萄糖醛酸苷结合反应。体外研究的主要UGT包括：UGT1A1、1A3、1A4、1A6、1A9、1A10、2B4、2B7、2B10、2B15和2B17。

(3) 其他Ⅱ相代谢酶，包括谷胱甘肽S-转移酶 (GST)、N-乙酰转移酶 (NAT) 和硫酸转移酶 (SULT)。

用于确定催化主要消除途径的酶而进行的体外研究的试验设计详见第7.1.1和7.1.2节。

通常应用体外代谢分型、代谢谱分析和物质平衡研究以鉴定和定量分析药物的各消除途径。若某代谢酶估计贡献 $\geq 25\%$ 药物的总消除，通常需要进行额外的临床研究，以量化在研药物作为该酶底物发生DDI的风险。通常是通过使用一种可获得的酶的强探针抑制剂（请参见第3.2.3.1节）开展临床DDI研究。对于某些酶，遗传药理学研究可以替代强探针抑制剂的临床DDI研究（请参见第4.1节）。由于诱导剂可以上调多种代谢酶和一些转运体（CYP2D6除外，通常被认为CYP2D6不能被药物诱导）的表达，因此通常也需要使用强诱导剂开展临床研究以充分表征DDI风险。

2.1.2 药物作为CYP酶抑制剂

应评价在研药物以可逆方式和时间依赖性方式 (TDI) 抑制CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6和CYP3A的可能性。

2.1.2.1 可逆性抑制

在可逆性抑制试验中，通常通过试验测定或用达最大抑制效应一半时游离药物浓度（ IC_{50} ）估算 K_i （抑制常数）值（请参见第7.3.3节）。如果用足够高药物浓度的试验表明 $K_{i,u}$ 将显著高于给定的临界值（见下文），则通常可以排除临床抑制的风险，而无需进一步的数据。

如果满足以下条件，则可以根据体外数据（“基础方法”）排除可逆性酶抑制的风险：

$$K_{i,u} > 50 \times C_{max,u} \quad (\text{i.e., } \frac{C_{max,u}}{K_{i,u}} < 0.02)$$

$K_{i,u}$ 是游离抑制常数。

$C_{max,u}$ 是使用推荐的最高剂量下达稳态时游离 C_{max} 。

在计算血浆游离药物浓度时，需要测定所有药物包括高蛋白结合药物（即蛋白结合率 $>99\%$ ）的 $f_{u,p}$ （血浆药物游离分数）。测定药物蛋白结合方法的精密度和准确性需要确认，蛋白结合率测定的完整验证数据，包括生物分析方法和适当的阳性对照（即与相关血浆蛋白高度结合的药物）。如果药物 $f_{u,p} < 0.01$ ，且无法获得准确的 $f_{u,p}$ 值时，血浆药物游离分数默认值设定为1%（即 $f_{u,p} = 0.01$ ）（请参见第7.2节）。对 $f_{u,p}$ 的考虑也适用于其他情况，其中基础方法、静态机制模型和动态机制模型（通常称为生理药代动力学，PBPK模型）可用于解释酶和转运体抑制/诱导实验的体外结果。

对于CYP3A抑制剂口服给药，如果满足以下条件，则可以排除肠道CYP3A抑制的风险

$$K_i > 0.1 \times \frac{\text{最大临床剂量}}{250 \text{ mL}} \quad \left(\text{即} \frac{\text{剂量}/250 \text{ mL}}{K_i} < 10 \right)$$

如果使用这种基础方法无法排除临床抑制风险，可使用静态机制模型和/或PBPK模型解释体外试验结果（请参见第7.5节）。如果体外数据和模型无法排除临床抑制风险，则应使用敏感探针底物进行临床DDI研究。

如果临床研究显示在研药物与其低 $K_{i,u}$ 值酶的底物间缺乏临床抑制作用，则对其他较大 $K_{i,u}$ 值酶得底物间临床抑制可以排除。这种推论仅适合代谢表达在相同位点，且在同一批次的人肝微粒体（HLM）/肝细胞中测定对酶抑制强度进行此类推断（秩次排序法）（1）。值得注意的是，除肝代谢酶外，口服给药可抑制肠道代谢酶（例如CYP3A）。在这种情况下，即使基于另一种CYP酶的阴性临床研究，用秩次排序法可以排除对CYP3A的全身性抑制，也应考虑胃肠道（GI）中对CYP3A抑制的风险。如果在研药物的代谢产物对酶有抑制作用，在用秩次排序法确定是否应进行临床研究时，也应考虑其代谢产物的贡献。

2.1.2.2 时间依赖性抑制

如果体外试验（请参见第7.3.3节）表明药物预孵育可增加酶抑制强度，在获得抑制动力学参数（ K_I 和 k_{inact} ）后，以下公式可用作评价TDI风险的基础模型（2）。如果满足以下条件，则可以根据体外数据排除临床抑制风险：

$$\frac{(k_{obs}+k_{deg})}{k_{deg}} < 1.25$$

$$\text{其中 } k_{obs} = \frac{(k_{inact} \times 5 \times C_{max,u})}{(K_{I,u} + 5 \times C_{max,u})}$$

k_{obs} 是抑制剂引起的酶表观一级失活速率常数。

k_{deg} 是关注酶的表现一级降解速率常数（请参见表6）。

$K_{I,u}$ 是达最大酶失活一半时游离抑制剂浓度。

k_{inact} 是抑制剂引起的酶最大失活速率常数。

$C_{max,u}$ 是稳态时血浆中游离抑制剂峰浓度。如果 $f_{u,p} < 1\%$ ，且不能准确获得时， $f_{u,p}$ 设定为1%（请参见第2.1.2.1节）。

注： $C_{max,u}$ 和 $K_{I,u}$ 需要以相同的单位表示（例如，以摩尔浓度单位）。

如果上述比值 ≥ 1.25 ，可使用静态机制模型和/或PBPK模型解释体外试验结果（请参见第7.5节）。如果体外数据和模型无法排除临床抑制风险，则应使用敏感指针底物进行临床DDI研究。上述可逆性抑制剂的秩次排序法不适用于TDI。

2.1.3 药物作为UGT抑制剂

众所周知，即使药物不是酶底物，但仍可能是抑制剂。然而，考虑到通常UGT抑制介导DDI的程度有限，可能无需对在研药物抑制UGT作用进行常规评价。如果葡萄糖醛酸化代谢是在研药物的主要消除途径，则建议在体外研究在研药物是否能够抑制UGT。建议研究的UGT包括UGT1A1、

UGT1A4、UGT1A9、UGT2B7和UGT2B15。通常使用具有相对选择性底物的重组UGT或人肝微粒体(HLM)进行评价(相应底物请参见第7.6.2.1节的表8)(4)。如果在研药物常与主要经葡萄糖酸化代谢为主要消除途径的药物合用,则建议用体外试验评价在研药物对催化其他药物消除的UGT亚型的潜在抑制作用。

由于临床DDI研究中评价UGT抑制作用的数据有限,尚未确立类似于CYP酶使用基础模型确定DDI风险的临界值。目前该临界值有待进一步确定,申请人可参照与CYP酶的评价标准(即 $C_{max,u}/K_{i,u} < 0.02$),或提出一个有依据的替代标准。

2.1.4 药物作为CYP酶诱导剂

应评价在研药物通过激活核受体孕烷X受体(PXR)、组成型雄烷受体(CAR)、芳香烃受体(AhR)以及其他相关药物调节途径诱导酶的可能性。有关试验的技术建议,请参见第7.3.4节。

为评估药物作为诱导剂的DDI可能性,应至少在3个供体的人肝细胞中进行研究,并应在mRNA水平上测定酶诱导的程度。通常用PXR/CAR(CYP3A4和CYP2B6)和AhR(CYP1A2)作为CYP3A4、CYP2B6和CYP1A2酶的诱导标志物。CYP3A4、CYP2C8、CYP2C9和CYP2C19均受PXR激活所诱导。一般情况下,药物对CYP2C8、CYP2C9和CYP2C19

的诱导作用均不及CYP3A4。因此，如果临床研究证实在研药物是CYP3A4的诱导剂，则需要在体内和/或体外研究在研药物是否对CYP2C8、CYP2C9和CYP2C19存在潜在的诱导作用。如果用CYP3A4敏感性底物获得诱导作用的阴性结果，则可以排除在研药物对CYP2C8、CYP2C9和CYP2C19的潜在诱导作用，也可排除在研药物及其代谢物对CYP3A4的潜在诱导作用。在体外研究对CYP2C19诱导作用时，CYP2C19的mRNA对诱导剂响应往往是有限的，应采用CYP2C19探针底物评价在研药物对CYP2C19的诱导作用（请参见7.3.4节）。

如下所述，有几种方法可用于解释体外诱导试验的mRNA数据，并评估药物在体内诱导酶的可能性。建议首先采用基础定性方法（mRNA倍数变化）。如果基础方法表明有诱导的可能性，则可以继续使用更多的定量方法（例如相关性方法）进行评价。可以用较大浓度范围内研究在研药物的诱导作用，以确定诱导参数（例如 E_{max} 和 EC_{50} ）。用定量方法，只需要一批次合格的肝细胞即可。基础本方法仅使用在研药物的体外数据，而相关性方法则可以将药物的诱导作用与多种临床已明确的关注酶诱导剂的诱导作用进行比较。

此外，也可使用静态机制模型或PBPK模型（请参见第7.5节）。如果根据体外数据和模型无法排除诱导的风险，则应使用关注酶的敏感底物进行临床研究。

2.1.4.1 基础“mRNA倍数变化”法

应对每个供体的诱导结果进行单独评价。mRNA水平与对照（溶剂）孵育结果进行比较，计算相对于溶剂对照的变化倍数。如果药物处置的肝细胞中，至少一个供体肝细胞中的mRNA水平符合以下标准，则不能排除其体内诱导可能性，应进一步评价其诱导可能性：

- 以浓度依赖性方式增加CYP酶的mRNA表达；以及
- 在浓度 $\leq 50 \times C_{\max,u}$ 条件下，CYP mRNA表达的变化倍数 ≥ 2 倍。

如阳性对照的mRNA变化倍数 < 6 倍，且在研药物引起CYP酶的mRNA增加小于溶媒对照的2倍，但大于阳性对照的20%，则不能排除在研药物对酶诱导的可能性。如不能获得确定性结果，则建议进一步评价（请参见7.3.4节和ICH M12问答文件）。

用计算相对阳性对照药物的百分数公式为：

$$\text{"\%阳性对照药物"} = \frac{(\text{"受试药物处理后的细胞mRNA增加倍数"} - 1)}{(\text{"阳性对照药物处理后的细胞mRNA增加倍数"} - 1)} \times 100$$

2.1.4.2 相关性法

相关性法可比较在研药物与已确定的关注酶临床诱导剂诱导作用（5）。根据相对诱导得分（RIS，见以下公式）或 $C_{\max,u}/EC_{50}$ 与一套已知关注酶诱导剂的体内诱导效应比较，预测在研药物体内诱导程度（如有和无诱导剂时，敏感底

物的曲线下面积（AUC）比值）（请参见第7.3.4节）。如果预测的AUC比值>0.8，则可排除体内诱导的风险。

$$RIS = \frac{E_{max} \times C_{max,u}}{EC_{50} + C_{max,u}}$$

EC_{50} 是达最大诱导效应一半时游离药物浓度。

E_{max} 是最大诱导效应。

$C_{max,u}$ 是达稳态时血浆中游离药物峰浓度。如果试验 $f_{u,p} < 1\%$ ，且难以准确测定，则 $f_{u,p}$ 设定为1%（请参见2.1.2.1节）。

有时，由于体外诱导曲线不完整（例如，药物溶解度或细胞毒性的限制），不能获得 E_{max} 或 EC_{50} ，此时，可选择验证过的替代的相关性方法（6）。

2.1.4.3 基础动力学模型

机制模型已经被用于预测全身以及胃肠道中不同相互作用过程（可逆性抑制、TDI、诱导）的综合效应。该方法在第7.5节中进一步讨论。

基本公式如下：

$$R = \frac{1}{1 + d \times \frac{(E_{max} \times 10 \times C_{max,u})}{(EC_{50} + 10 \times C_{max,u})}}$$

R 是预测的有和无诱导剂时敏感酶底物AUC的比值

$C_{max,u}$ 是血浆中最大游离在研药物浓度。如果 $f_{u,p} < 1\%$ ，且难以准确获得时， $f_{u,p}$ 设定为1%。 d 是比放因子（7）。如果在诱导

试验中测定比例因子（请参见第7.1.4节），则默认 $d=1$ 。

如果 $R>0.8$ ，则可排除体内诱导的风险。

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），则应使用敏感的指针底物或机制模型进行临床DDI研究，以进一步研究在研药物对代谢酶的潜在诱导作用（请参见第7.5节）。

2.1.4.4与诱导相关的其他注意事项

目前，尚未建立良好的，能够评价UGT诱导的体外方法。如果有研究显示在研药物是通过激活核受体PXR或CAR而诱导CYP表达的，则提示该药物有可能通过这些受体调节UGT表达。第3.2.4.3节描述了开展由诱导UGT所介导的临床DDI研究的更多考虑可供参考。

体外诱导研究也可以检测到代谢酶下调。但目前对这方面的研究十分有限，这些效应背后的机制尚不清楚。如果体外试验观察到这种下调是浓度依赖性（mRNA的表达 $<50\%$ 对照的mRNA），且与细胞毒性无关，则可以考虑进行额外的体外或临床研究来了解潜在的临床后果。

2.2转运体介导的相互作用评估

2.2.1药物作为转运体的底物

P-糖蛋白 (P-gp) 和乳腺癌耐药蛋白 (BCRP) 是表达在胃肠道中的外排转运体, 可能影响药物的口服生物利用度。因此, 通常采用体外研究评估口服在研药物是否为P-gp和/或BCRP的底物。由于这两种蛋白也在肝脏 (P-gp, BCRP) 和肾脏 (P-gp) 中表达, 所以如果胆汁排泄或肾脏主动分泌是药物的主要消除途径, 则应考虑对药物进行体外研究。此外, 评价P-gp和BCRP介导的转运可能有助于评估药物的脑渗透性。

有机阴离子转运多肽 (OATP) 1B1和OATP1B3是重要的肝脏摄取转运体。如药物通过肝脏代谢或胆汁排泄在药物的消除中占比 $\geq 25\%$, 或者药物的药理学靶点在肝脏, 则应考察在研药物是否为OATP1B1和1B3的底物。

肾脏摄取转运体 (有机阴离子转运体 (OAT) 1, OAT3, 以及有机阳离子转运体 (OCT) 2) 和肾脏外排转运体 (多药及毒性化合物外排转运蛋白 (MATE) 1和MATE2-K) 通常参与肾脏主动分泌。如果药物的肾主动分泌清除率 \geq 系统清除率的25%, 则应考虑对药物进行体外研究, 评价药物是否为这些转运体的底物。假设无重吸收 (例如, 被动重吸收等于被动分泌, 且无主动重吸收), 则可通过 $CL_r - (f_{u,p} \times GFR)$ 计算肾主动分泌清除率, GFR为肾小球滤过率, CL_r 为肾脏清除率。如果无法获得静脉给药后的药代动力学学数据, 则可以用表观总清除率乘以估算的生物利用度计算系统清除率。

除上述转运体之外，随着新信息的出现和认识的深化，可以根据具体问题具体分析，对药物是否为其他转运体的底物进行体外评价。例如，多药耐药蛋白2（MRP2）也是外排转运体，与P-gp和BCRP的表达位置相似；OATP2B1是摄取转运体，位于肝脏和肠道中，参与某些药物的吸收；OCT1是一种肝脏转运体，介导某些药物的肝脏摄取。是否需要评价其他转运体，可以根据药物作用部位、被动渗透性以及药物吸收和消除途径的信息进行考虑。

2.2.1.1 数据分析和解释

当考察在研药物是否为转运体的底物时，体外研究应使用转运蛋白活性经探针底物和抑制剂验证的试验系统（部分例子请参见第7.6.3节，表10和11）。第7.4.1和7.4.2节描述了进行体外研究需考虑的其他细节。

对于摄取研究，如果相对于空白载体转染细胞，受试药物在表达转运体的细胞中有明显摄取（例如，是对照组的2倍及以上），并且在表达转运体的细胞中摄取能被该转运体的已知抑制剂50%以上，则可认为受试药物是转运体的底物。

对于双向转运研究，如果表达转运体的细胞对受试药物存在明显的单向转运，如果与未转染的细胞或亲代细胞相比净外排率 ≥ 2 ，或与Caco-2细胞相比外排率 ≥ 2 ，且该转运体的已知抑制剂可以抑制外排超过50%，则可认为受试药物是所

转运体的底物。

如果之前使用细胞体系的经验，证明了替代方法的合理性，可以使用2以外的临界值或与阳性对照的特定相对比率。还可根据既往经验和内部数据，提出囊泡分析法的标准。

如果体外研究表明药物是转运体的底物，应考虑进行临床研究。详细信息参见第3.2.5.1节。

2.2.2 药物作为转运体的抑制剂

应开展研究评价在研药物是否为P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1和MATE2-K的抑制剂。必要时，可考虑评价药物对其他转运体的抑制潜力。如果联用的药物是其他转运体的底物，则可以考虑评价这些转运体。体外研究应使用转运蛋白活性经探针底物和抑制剂验证的试验系统（请参见第7.6.3节）。关于如何开展体外研究的内容请参见第7.4.1节和7.4.3节。

使用表1中列出的基本方法和标准获得体外试验数据，可以排除在研药物对人体转运体抑制的风险。还应考虑药物代谢产物对转运体抑制的贡献（请参见第2.3.2节）。

表1. 评估药物作为转运体抑制剂的推荐比值和临界值

P-gp或BCRP	口服药物， $IC_{50,u}^* > 0.1 \times (\text{剂量}/250 \text{ mL})$ (即， $\text{剂量}/250 \text{ mL} / IC_{50,u} < 10$)
OATP1B1 或	$IC_{50,u} > 10 \times C_{\text{max,inlet,u}}^{\#}$ (即， $C_{\text{max,inlet,u}} /$

OATP1B3	$IC_{50,u} < 0.1$
OAT1, OAT3, OCT2	$IC_{50,u} > 10 \times C_{max,u}$ (即, $C_{max,u}/IC_{50,u} < 0.1$)
MATE1/MATE2- K	$IC_{50,u} > 50 \times C_{max,u}$ (即, $C_{max,u}/IC_{50,u} < 0.02$)

$C_{max,u}$ 是抑制剂在治疗剂量达稳态时, 血浆游离药物最大浓度。

* 假定竞争性抑制, 当底物浓度远低于 K_m 时, 抑制剂的 $K_{i,u}$ 接近 $IC_{50,u}$ (8)。

$C_{max,inlet,u}$ 是估计的抑制剂在肝脏入口处的游离药物最大浓度。

$C_{max,inlet,u} = f_{u,p} \times (C_{max} + (Fa \times Fg \times ka \times \text{剂量})/Qh/R_B)$ (36)。如果未测定 Fa 、 Fg 、 ka 值, 可以用 $Fa=1$, $Fg=1$, $k=0.1/min$ 做近似估计。如果不能证明 $f_{u,p}$ 测量值 $<1\%$ 的可靠性, 则应将 $f_{u,p}$ 设为 1% (也可参见第2.1.2.1节)。

对P-gp或BCRP的推荐比值和临界值适用于口服药物。如果在研药物肠道外给药, 或吸收后生成的代谢产物抑制P-gp或BCRP, 可以使用 $IC_{50,u} > 50 \times C_{max,u}$ (即 $C_{max,u}/IC_{50,u} < 0.02$) 作为判定依据。

表1中的临界值是基于体外到体内的外推分析确定的, 主要使用 IC_{50} 并基于有限的文献数据。如果基于体外到体内的外推, 以及使用这些转运体系统的已知抑制剂和非抑制剂

对特定体外系统进行校正，也可以建议不同的临界值。

如果上述分析表明药物是某个转运体的抑制剂，则应根据目标患者人群可能合用的药物是否为被抑制的转运体的已知底物及这些底物的安全性，考虑开展临床试验。或者可以使用静态机制模型、PBPK模型或内源性生物标志物，评估药物的抑制潜力。对于这些方法，应提交支持其有效性的验证数据。

2.2.3 药物作为转运体的诱导剂

目前，评价对转运体诱导的体外方法尚不完善。如果在研药物通过激活核受体（如PXR或CAR）作为CYP酶的诱导剂，通过这些受体调控的转运体很可能被诱导，如P-gp。更多考虑事项请参见第3.2.5节对开展转运体介导的临床DDI研究的描述。

2.3 代谢产物的DDI可能性

在研药物代谢产物的DDI可能性评估通常从体外试验开始，其策略通常与原形药相同。如下所述，应基于药理学活性或血浆暴露量考虑是否需要代谢产物的DDI可能性进行评价。

2.3.1 作为底物的代谢产物

如果非临床或临床研究数据表明代谢产物暴露量的变化可导致药物有效性或安全性发生有临床意义的变化（“靶向”和“脱靶”效应），则应研究代谢产物形成或消除的改变而产生DDI的风险。如果代谢产物对体内靶效应的贡献程度与原形药相似或高于原形药，则应在体外鉴定导致代谢产物形成和消除的酶。应通过考虑人体中的游离代谢产物和原形药暴露量（例如，以摩尔单位表示的AUC）、药理学效力（例如，受体结合亲和力、酶抑制效力）以及与靶组织分布相关的数据（如有），评估代谢产物对有效性的贡献。鉴定参与活性代谢产物形成和消除的酶应采用与鉴定参与原形药消除的酶相同的研究策略。如果代谢产物的血浆蛋白结合率较高，且蛋白结合率的测定方法已经完成了准确度和精密度的验证，则可以使用测定的 $f_{u,p}$ (请参见7.2节)。同样，如果根据现有非临床或临床信息怀疑代谢产物可引起明显的不良反应，则应鉴定参与该代谢产物形成和消除的主要酶。与原形药的代谢表型研究一样，参与代谢产物形成和代谢的酶的特征也应从主要的CYP酶开始，并在适当时考察其他酶。

考虑到转运体介导的分布或消除与代谢产物处置的相关性，上述一般原则也可用于表征作为主要转运体底物的代谢产物。

是否应使用酶或转运体的抑制剂或诱导剂进行临床DDI研究，取决于酶或转运体介导的代谢产物形成或消除的估计

比例、代谢产物对临床效应的贡献程度、代谢产物的暴露-效应关系（如已知）和可能影响酶或转运体的合并用药。

2.3.2 作为抑制剂的代谢产物

即使体外评估表明原形药本身不会抑制主要的 CYP 酶/转运体，或预期在临床上不会抑制酶/转运体，仍然可能由代谢产物作为抑制剂导致DDI。作为一项实用规则，推荐对总 $AUC_{\text{代谢物}} \geq AUC_{\text{母体}}$ 的 25%，且至少占血液循环中药物相关物质10%（视为主要代谢物，通常根据放射性数据确定）代谢物的 CYP 酶和转运体潜在抑制作用进行研究。

如果体外评估表明原形药抑制主要的CYP酶和转运体，且计划进行临床DDI研究，则可能不需要对代谢产物进行酶或转运体抑制剂的体外评估。代谢产物潜在的抑制作用将与原形药一起隐含地反映在临床DDI研究中，除非临床DDI研究中不能充分体现代谢产物的临床相关暴露量（例如，研究持续时间不够代谢产物蓄积）。值得注意的是，代谢产物的体外评估可有助于解释DDI研究的结果。

根据代谢产物的体外DDI评估结果，遵循与原形药相同的方法确定是否进行临床DDI研究。通常，代谢产物可能与肠道CYP或转运体抑制评价不相关，除非它们在肠道或肠细胞中大量形成。如果基本方法表明代谢产物具有体内DDI可能性，且随后使用静态机制模型或PBPK模型评价药物的DDI

风险，则应将代谢产物纳入这些模型中。

2.3.3 作为诱导剂的代谢产物

当代谢产物可诱导 CYP 酶时，作为潜在诱导剂的体外评价也可以反映代谢产物的诱导作用，因为在原形药与肝细胞孵育的过程中可生成代谢产物原形药。然而，当药物是前药或代谢产物主要在肝外形成时，如果代谢产物是主要代谢产物， $AUC_{\text{代谢产物}}/AUC_{\text{原形药}} \geq 25\%$ ，且至少占血液循环中药物相关物质的10%，则建议体外评估代谢产物对 CYP 酶的潜在诱导作用。根据代谢产物的体外评估结果，遵循与原形药相同的方法确定是否进行临床 DDI 研究。

3. 临床评价

3.1 临床DDI研究的类型（术语）

有多种研究类型可用于评价临床DDI发生的可能性及其严重程度。本节所述的研究类型并不冲突，在进行DDI研究时，应根据研究的具体目的，选择适当的研究类型。

通常基于针对评价DDI设计的前瞻性研究进行监管决策。因为回顾性研究的目的并非单纯用于评价DDI，故其较难拥有足够准确和全面的药物浓度数据以便充分评价DDI，因此使用回顾性研究确定或排除的DDI有可能需要使用前瞻性研究进行再次确认。

在某些情况下，可基于体外试验结果使用模型预测的方法（静态机制模型或PBPK模型）预测潜在的临床DDI，而无需进行额外的临床DDI研究。应用场景和注意事项见第7.5节。

3.1.1 独立和嵌套DDI研究

独立DDI研究的主要目的是确定是否存在临床DDI及其严重程度。而嵌套DDI研究则是选取大规模临床试验（例如，II/III期）中的一个亚组进行评估，此时DDI评估不是其主要目的。为能够充分观察到潜在的DDI，嵌套DDI研究需要预先规划和适当设计（详细信息请参阅第3.2.2节）。

3.1.2 指针促变药和指针底物的DDI研究

“指针药物”是根据其抑制、诱导能力或代谢途径，可对其药代动力学和DDI特征进行充分理解和预测的促变药（抑制剂或诱导剂）和受变药（底物）。指针药物DDI研究常见的研究目的是评估特定代谢途径介导的最大药动学DDI。对于DDI受变药，最大程度的DDI通常来自于与该药物代谢途径的强效指针抑制剂或诱导剂的合并用药。对于DDI促变药，最大程度的DDI通常是由该药物与敏感指针底物合并用药所致。

指针药物研究的一个显著特征是，其研究结果通常可以外推至与其他药物的合并用药。在使用指针抑制剂进行研究

后，可以假设对于该代谢途径具有相同抑制强度的其他药物也具有相似的DDI效应。此外，如果合并使用强效指针抑制剂后药物暴露量的变化不具有临床意义，则无需对该代谢途径介导的其他DDI情况（中效或弱效）进行进一步研究。用指针促变药或底物得到的DDI研究结果，也有助于目标人群中在研药物与常用合并用药的DDI研究设计。指针药物（底物、抑制剂或诱导剂）列表见第7.7.1节。

目前，转运体和某些代谢酶（例如，CYP2B6、UGT）的指针底物或促变药尚未确定，主要原因是不够特异。然而，对于这些代谢途径，能够提供与指针底物或促变药研究类似的信息（即，特定途径产生DDI的可能性）也是十分重要的。尽管尚未确定指针底物或促变药，但第7.7.2和7.7.3节也列出了可用于这些途径DDI研究的药物，这些药物也可提供信息丰富的结果，并有助于解释在研药物的临床问题。然而，这些研究结果的外推可能比指针药物的外推更困难。

3.1.3 预期合并用药的DDI研究

除上述针对指针药物的DDI研究外，在研药物与目标人群可能服用药物之间的DDI研究也可能具有临床参考意义。当在研药物用作其他疗法的辅助治疗或作为固定给药组合的一部分时，也需考虑与其固定联合用药进行DDI研究。在选择此类DDI研究中拟评价的药物时，申办方应基于指针药

物的体外研究和临床研究结果，深入理解在研药物与预期合并用药的潜在DDI机制，并考虑合并用药的频率。此外，由于转运体和某些代谢酶（例如，UGT；CYP2B6）缺乏指针底物或促变药，因此通常基于合并用药的可能性进行DDI评价。

预期合并用药的DDI研究可指导在研药物和/或合并用药的临床给药方案调整，以及对不良反应或疗效降低情况的监测策略。然而，尽管这些研究可为患者和医护人员提供合并用药的信息，但其结果可能难以外推至其他药物。

3.1.4 鸡尾酒法

鸡尾酒法可同时给予受试者多种代谢酶和/或转运体的底物。如果研究设计和实施得当，鸡尾酒法可同时评价药物对多种代谢酶和转运体的抑制或诱导可能性（更多详细信息请参见第3.2.6节）。

3.1.5 生物标志物法

DDI风险评估的一种新兴方法是使用内源性生物标志物作为药物代谢和转运的底物，通过测量在研药物给药前后血浆和/或尿液中的内源性生物标志物水平以评价DDI程度。在临床研究中，通过监测内源性生物标志物，可提供药物作为特定途径的促变药产生DDI可能性的早期指征（详见第3.2.7节）。

3.2 临床DDI研究的研究计划和注意事项

临床DDI研究一般以存在和不存在*促变药*时底物药物暴露量（例如，AUC比值）的比值作为评价指标。在设计前瞻性临床DDI研究以明确该比值时，以下考虑因素至关重要。

3.2.1 研究设计

3.2.1.1 研究人群和样本量

如果健康受试者的DDI研究结果可以准确外推至预期患者人群，那么DDI临床研究可在健康受试者中进行。然而，出于安全性考虑，某些药物的DDI研究可能无法使用健康受试者。而对于某些药物，除PK终点外，在DDI研究中使用预期患者人群还可评价在健康受试者中无法研究的药效动力学终点。

DDI研究中纳入的受试者数量应能可靠评估DDI的程度和变异。

3.2.1.2 剂量

对于旨在确定最大程度DDI的研究，DDI研究中使用的*促变药*剂量应最大限度地保证发现DDI的可能性。因此，通常应使用*促变药*在临床推荐给药方案中的最大剂量和最短给药间隔。

如果受变药具有线性药代动力学特征，申办方可选择线性范围内的任一剂量进行研究，否则应选择最有可能观察到DDI的治疗剂量。当存在安全性隐患时，也可以使用较低剂量的受变药，包括低于治疗剂量的剂量。

根据已完成的体外或临床DDI研究，如果预期会发生具有临床意义的DDI，在研究中可对受变药进行剂量调整，以确定临床实践中合并用药的剂量。在这种情况下，应使用促变药的临床相关剂量。

3.2.1.3 单次或多次给药

在临床DDI研究中，促变药通常采用多次给药的方式，但如果DDI仅发生在药物吸收环节（例如，抑制肠道P-gp或BCRP），那么申办方可以使用单次给药的方式进行评价。

此外，若单次给药后促变药的暴露量可代表其稳态暴露量，且促变药不是潜在的诱导剂或时间依赖性抑制剂时，可采用单次给药进行DDI研究。单次给药的剂量可以是治疗剂量，也可以是更高的剂量，视蓄积情况而定。在进行DDI研究前，需了解促变药更高剂量的安全性。当使用半衰期较长的底物进行研究时，可能需要多次给予促变药，以涵盖底物暴露的整个时长。考虑到抑制剂存在的情况下，底物半衰期可能会延长，因此促变药给药时长应足够长，至少能覆盖受变药90%（改变前？改变后80%？） AUC_{inf} 对应的血浆浓度-

时间曲线。但是，如果底物的半衰期长到促变药给药无法覆盖整个血浆浓度-时间曲线，也可使用群体PK或PBPK分析估算此DDI对底物暴露量的完整影响。

如果促变药的代谢产物具有较长的半衰期，或者对DDI研究中评价的代谢酶表现出时间依赖性抑制作用，则原形药物的给药持续时间，应足以使原形药物和代谢产物引起的酶抑制作用达到稳态。

应多次给予诱导剂，以确保对特定途径的最大诱导作用。给药时长应考虑诱导剂的达稳时间、目标代谢酶或转运体的周转时间以及底物的半衰期。典型的预处理持续时间为7至14天。

当特定促变药存在多种DDI机制时，在某些情况下适合单次给药（例如，评价利福平作为OATP1B1抑制剂），而在其他情况下适合多次给药（例如，评价利福平作为CYP3A诱导剂）。

如果底物不具有时间依赖性药代动力学特征，则底物可以单次给药，其暴露量的增加可外推至稳态条件。若其具有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评价。

3.2.1.4 制剂和给药途径

临床DDI研究中，在研药物的给药途径通常应与临床治

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物和代谢产物相应浓度-时间曲线的相似性来选择DDI研究的给药途径。

制剂相关的DDI也可能发生（9，10）。当外推制剂间的DDI结果时，应考虑潜在的DDI在制剂间存在差异的可能性。一般而言，通过比较制剂的吸收速率和程度，可以推断出存在制剂相关DDI的可能性。什么情况下（改制剂？）

3.2.1.5 平行与交叉试验设计

为减少变异性，临床DDI研究中，交叉试验设计（单序列或随机）优于平行试验设计。洗脱时间应基于底物和促变药的药代动力学特征、对底物半衰期的预期影响、以及代谢酶或转运体活性恢复至基线水平或潜在药效动力学效应恢复至用药前水平所需的时间（如也对药效动力学效应进行评价）。在某些情况下，额外的交叉设计可提供有用的信息（例如，评价去除诱导剂或时间依赖性抑制剂后酶活性恢复至基线水平所需时长、评价可能相互影响的两种药物（每种药物单独给药和联合用药）、或评价某种药物急性治疗和慢性治疗后对DDI的影响）。

当交叉研究设计不可行时，如其中一种药物（或主要活性代谢物，如适用）的半衰期较长，可考虑使用平行、双臂研究设计。通常情况下，平行研究比交叉研究需要更大的样

本量，以平衡可能影响受试者药代动力学的外部及内部因素。

3.2.1.6 给药时机

在多数DDI研究中，*促变药*和*受变药*可同时给药。然而，如果*促变药*既是抑制剂又是诱导剂，则给药时机至关重要。在这种情况下，给药时机和药代动力学采样时间应考虑DDI研究的目的。对于指针研究，为确保最大的诱导效应，建议*促变药*和*受变药*错时给药，以防止抑制效应掩盖诱导效应。如果研究目的是评估联合用药，则应使用预期的临床用药方案。

如果大部分DDI发生在吸收或首过环节，则可以考虑交错给药方案（临床研究或PBPK），以了解这种方法是否是一种可行的DDI缓解策略。额外做还是直接做？

在拟评价DDI的药物需要不同进食条件以达到最佳吸收效果时，应调整给药时间，以观察到最大DDI的程度（即指针研究）和/或反映临床进食条件（即与潜在伴随药物的DDI研究）。同上？

3.2.1.7 合并用药和其他影响DDI的外因

为降低DDI程度的变异性，在DDI研究期间应尽可能避免使用以下药物：可能会影响代谢酶和转运体表达或功能的其他药物、膳食/营养补充剂、草本补充剂、烟草、酒精、食

物和果汁。这种避免使用要求应在受试者入组前足够长的时间内开始，并在整个研究期间保持。

3.2.1.8 样本与数据收集

药代动力学评估的采样时间应足以表征单独给药和合并用药条件下底物药物的 AUC_{0-inf} （适用于单剂量研究）或 AUC_{0-tau} （适用于多剂量研究）和 C_{max} 。应根据拟定适应症的药代动力学或药理学意义收集额外的药代动力学参数（例如，最低浓度（ C_{min} ）、部分AUC）数据。单剂量研究的采样时间需考虑到DDI可能导致的半衰期延长，应使 AUC_{0-t} 和 AUC_{0-inf} 之间的平均差异小于20%。采集的样本应包含解读研究结果所需的药物分子，在多数情况下，解读结果所需的药物分子为原形药，如果代谢产物数据有助于理解DDI对在研药物安全性或有效性的影响或涉及的DDI机制，代谢产物的浓度也应进行检测。例如，当对通过多途径发生DDI的药物进行临床DDI评估时，代谢产物的检测可能有助于确定导致DDI的代谢酶和/或转运体。除采集样本进行在研药物的药代动力学评估外，还可选择性地收集少量稀疏的抑制剂或诱导剂样本，以确保抑制剂或诱导剂的血浆浓度在预期范围内。此外，也可收集尿液样本以了解涉及肾脏转运体的DDI。

当体外数据提供了合理的DDI机制，但却无法通过全身药物暴露量进行评价时，收集和分析药效动力学数据可提供

相关信息。一种可能的情况是，转运体抑制改变了药物进入特定器官或组织的途径。在这种情况下，临床结果（例如，底物药物组织分布改变导致的疗效改变或毒性增加）可作为药效动力学终点进行测量，而药物DDI可能性的体外证据可以为数据解读提供支持。

3.2.2 嵌套DDI研究的特别注意事项

嵌套DDI研究将临床DDI评价作为其他研究（例如，II/III期）的一部分，此时DDI评价并非其主要目的，而是前瞻性地将其作为探索性或次要目的来研究。嵌套DDI研究通常用于评价药物是否为合并用药的受变药，有时也可用于评估药物是否为促变药。如果临床研究设计得当，能够检测出DDI引起药物暴露量的显著变化，那么此类分析的结果可以提供有用的信息，有时甚至是结论性信息。嵌套DDI研究的一个优点是其在患者人群中进行，更能代表预期的临床环境。然而，嵌套DDI研究也具有一定挑战，因为其往往需要有针对性的研究设计和数据收集。在一些情况下，PBPK模型可协助设计嵌套DDI研究（请参见第7.5.2节）。

嵌套DDI研究可以评价在整个临床试验期间使用的合并用药或在试验期间针对患者状况添加的合并用药的影响。在嵌套DDI研究中，需要预先确定要评估的合并药物，这些药物的选择通常基于存在的DDI机制。同时，还需考虑这些药

物在患者人群中的相关性，以确保研究结果具有实际意义。研究设计可以根据机制（例如，强CYP3A抑制剂）指定单个药物或进行分组研究。但是，采取分组策略时，必须谨慎考虑组内不同药物之间可能存在的效应差异，以及这种差异对数据分析和结果解读可能产生的影响（11）。

模拟可用于确定适当的药代动力学样本数量，并协助选择采样时间，还可以进行把握度分析，以估计在给定的患者数量和伴随药物使用情况下，研究能够检测到的最小效应大小，并确保该效应大小具有可接受的精确度。

为确保研究结果的正确解读，收集以下信息至关重要：给药时间（在研药物和合并用药）、药物剂量、相对于进食的时间（若相关）、其他合并用药以及PK采样日期和时间（实际采样时间，非计划采样时间）。记录合并用药的起始日期、停药日期与观察到DDI的时间也很重要，特别是当伴随用药是诱导剂或时间依赖性抑制剂时。

嵌套DDI研究通常使用群体PK法进行评价，该评价应基于科学实践中广泛建立的模型，确保模型的稳健性和适用性。在进行研究前，应制定针对DDI评估的群体PK分析的样本收集计划。一般而言，标准分析方法为将合并用药作为分类协变量的二元评价。申办方应考虑其选择的分析方法是否能在DDI评价中提供所需的精确度。无论采用何种分析方法，均应说明所有的假设。

在某些情况下，为解释临床研究结果，也会对II/III期试验中的潜在DDI进行非计划内的分析，如某一组患者中的安全性或有效性问题，或筛选出在试验设计时未预计到的潜在DDI。如果收集的数据符合本节描述的标准，则可以得出是否存在DDI的结论。然而，如果数据不足以准确评估DDI，则需要对DDI可能性进行进一步评估。

3.2.3 CYP酶介导的相互作用的注意事项

3.2.3.1 作为CYP酶底物的在研药物

评价在研药物作为CYP酶底物的DDI时，首次临床DDI研究通常应确定强效指针抑制剂和诱导剂对在研药物的影响。如果特定CYP酶无强效指针抑制剂或诱导剂，可使用中效指针抑制剂或诱导剂进行DDI临床研究。某些CYP酶的抑制剂和诱导剂可能影响其他CYP酶和/或转运体途径，因此在选择用于前瞻性DDI研究的指针抑制剂和诱导剂时，应综合考虑在研药物的所有代谢和转运途径。根据第7.7.1节中列出的标准，也可使用其他CYP酶的强效抑制剂和诱导剂进行DDI研究。如果在研药物是多种CYP酶和/或转运体的底物，在某些情况下，检测代谢产物有助于解释研究结果和DDI机制。

如果用强效指针抑制剂或诱导剂进行的DDI研究表明不存在DDI，则无需使用相同CYP酶的其他抑制剂或诱导剂进

行额外的临床评价。然而，DDI研究结果可能显示基于体外数据拟定的主要CYP酶对药物消除并无贡献，此时应考虑进一步研究其他代谢途径。可能体内外不一致。

如果用强效抑制剂或诱导剂进行的DDI研究表明存在临床意义的DDI，则评价中效抑制剂或诱导剂的影响可能有助于全面了解在研药物的DDI可能性。所评价的中效抑制剂和诱导剂可能是预期患者人群的合并用药。可以在临床DDI研究中评价其他抑制剂和诱导剂的作用，或者在某些情况下，基于模型的方法可以提供额外的信息(请参见第7.5节)。如果预计应避免与强效诱导剂或抑制剂合并用药，那么在初始研究中使用中效诱导剂或抑制剂进行DDI研究可能更为适合。

如果在研药物通过具有遗传多态性的CYP酶发生显著代谢，而此CYP酶具有明确定义的慢代谢表型而导致酶活性的丧失，那么将药物的药代动力学参数在慢代谢表型个体与正常代谢表型个体中进行比较，可以替代该特定代谢途径的DDI研究(请参见第4.1节)。

3.2.3.2 作为CYP酶抑制剂或诱导剂的在研药物

当在研药物作为CYP酶的潜在抑制剂或诱导剂时，选择用于初始临床研究的指针底物应对拟评价CYP酶的活性或数量的变化敏感(请参见第7.7.1节)。由于某些底物并非一种

CYP酶的特异性底物，有时还可能是转运体的底物，因此应根据现有的体外和临床数据，结合在研药物的抑制/诱导特征，选择最合适的底物。其他CYP酶底物也可能适用。如果底物药物由多种CYP酶代谢，检测代谢产物有时可以帮助解释研究结果。

如果使用最敏感的指针底物进行的初步研究结果为阴性，则无需使用敏感性更低的代谢酶底物进行研究。如果初始研究确定在研药物抑制或诱导敏感指针底物的代谢，则使用其他底物（例如，相关的合并用药）进行进一步研究可能会有所帮助。应考虑在研药物对敏感指针底物的影响程度，以及与同为该代谢酶底物的其他药物联合用药的可能性。

如果在研药物既是代谢酶的诱导剂，又是代谢酶的抑制剂，则药物对代谢酶功能的净效应可能具有时间依赖性。当相关时，药代动力学终点的测定时间应有助于理解效应随着时间的变化。为达到此目的，试验期间应在在研药物给药的早期和晚期时间点评估底物药物的药代动力学。可逆性抑制作用在治疗开始时可能更明显，而诱导作用可能在治疗结束后最为显著。

3.2.4 评价UGT介导的相互作用的注意事项

3.2.4.1 作为UGT底物的在研药物

基于有限的文献证据，抑制UGT介导的DDI（通过存在

与不存在抑制剂时底物的AUC比值反映)幅度通常小于抑制CYP酶所观察到的幅度(3)。对于主要通过葡萄糖醛酸化直接消除的在研药物,应考虑药物的安全性特征及其与该UGT同工酶抑制剂联合使用的可能性,根据具体情况开展UGT抑制剂的临床DDI研究(UGT抑制剂的部分示例请参见第7.7.2节的表16)。一些UGT底物也是其他代谢酶或转运体的底物,当UGT抑制剂也影响这些代谢酶或转运体时,与UGT抑制剂的DDI可能涉及其他机制。因此,除了检测UGT底物本身之外,葡萄糖醛酸结合物的浓度测定也可能是有价值的。葡萄糖醛酸代谢产物相对于原形药物的变化可能有助于深入了解DDI的潜在机制。此外,一些葡萄糖醛酸代谢产物具有活性或反应性,可能对药物的有效性或安全性产生影响。在这种情况下,除原形药物的浓度外,还应测量葡萄糖醛酸结合物的浓度。

已报道某些UGT(如UGT1A1、UGT2B7、UGT2B10、UGT2B15和UGT2B17)的基因变异会导致经UGT代谢药物的药代动力学发生变异。在某些情况下,可比较不同UGT基因型受试者的PK数据来确定UGT代谢途径在体内对于药物消除的重要性,并估计与UGT抑制剂的DDI程度。

此外,某些PXR激动剂(如中等或强效CYP3A诱导剂)也可诱导UGT。对于主要由UGT代谢的在研药物,还应根据其 与UGT诱导剂联合用药的可能性以及在研药物的剂量/暴

露量-效应关系考虑和评估诱导剂的影响。

3.2.4.2作为UGT抑制剂的在研药物

如第2.1.3节所述，考虑到UGT抑制介导的DDI程度通常有限，可能不需要对在研药物的UGT抑制作用进行常规评估。在进行第2.1.3节所述的体外评估后，决定是否进行临床DDI研究以评价药物作为UGT抑制剂的作用时，还应考虑该药物与已知UGT同工酶（请参见第7.7.2节表15的示例）底物联合用药的可能性以及这些底物的安全性特征。

3.2.4.3作为UGT诱导剂的在研药物

目前对UGT的基因表达了解有限。然而，有限的临床DDI研究表明，某些UGT可能由PXR和/或CAR激动剂诱导，这些激动剂也调节CYP3A4的表达。UGT的可诱导性低于CYP3A4，因此，对于体外发现可诱导CYP3A4并在临床DDI研究中进一步评价的药物，该药物对CYP3A4底物的影响可能提示其对UGT的潜在诱导作用。如果一种药物可使CYP3A敏感底物的AUC降低 $\geq 50\%$ ，则可使用该药物和UGT底物进行进一步的临床DDI研究，具体取决于CYP3A底物的暴露量变化幅度、在研药物与UGT底物联合使用的可能性、是否有其他代谢酶/转运体参与UGT底物的药代动力学，且也可通过PXR/CAR激动剂进行调节、以及这些UGT底物的剂量或暴露量-效应关

系。值得注意的是，一些CYP3A4诱导剂的诱导作用被其对CYP3A的抑制作用所掩盖。因此，虽然这些药物在临床研究中抑制CYP3A4，但可能对UGT表现出诱导作用。

3.2.5 评价转运体介导的相互作用的注意事项

3.2.5.1 作为转运体底物的在研药物

如果体外研究表明在研药物是转运体底物，则申办方应根据药物的被动渗透性、给药途径、体内吸收和消除特征、理论作用部位、安全性特征、剂量或暴露量-效应（有效性和安全性）关系以及和已知转运体抑制剂或诱导剂合并用药的可能性来确定是否进行临床DDI研究。对于是体外转运体底物的在研药物，表2中的一般指导原则有助于确定在何时进行临床DDI研究：

表2：药物作为转运体底物的临床评价考虑

转运体	通常建议进行临床DDI研究的情况
P-gp和BCRP	当肠道吸收受到限制，或胆汁分泌/肾脏主动分泌是主要消除途径时。
OATP1B1 和 OATP1B3	当肝脏（代谢/胆汁）消除是在研药物的重要消除途径（≥25%），或药物的作用部位在肝脏，且药物的性质支持药物肝脏主动摄取的重要性时。

OAT1	和	当在研药物发生明显的肾脏主动分泌（即占全身清除率 $\geq 25\%$ ）时。
OAT3、OCT2、		
MATE1	和	
MATE2-K		

当在研药物为转运体底物时，选择的促变药应为相关转运体的已知抑制剂。由于转运体介导的途径通常缺乏指针促变药，故通常根据合并用药的可能性来选择转运体促变药（例如，为获得具有临床意义的DDI信息，以指导说明书中DDI管理的撰写）。第7.7.3.2节表19提供了一些示例。

转运体抑制剂可用于了解DDI的潜在机制或确定预期的最大DDI程度。如果体外研究结果表明药物是多种转运体的底物，则可以使用多种转运体的广泛抑制剂进行临床研究，以确定预期的最大DDI程度。例如，环孢素可以抑制肠道P-gp、BCRP以及肝脏OATP，可用作DDI研究中的广泛抑制剂。此类研究的阴性结果可排除将药物作为任何单个转运体底物进行进一步评价的必要性。如果研究结果为阳性，则可使用对特定转运体更具选择性的抑制剂进行额外研究，以确定抑制每种转运体对底物药物处置的影响。同样的范例也适用于同时作为转运体和代谢酶（例如，CYP3A和P-gp）底物的在研药物。

如果研究的目的是确定特定代谢途径在底物药物药代

动力学中的作用以及由此产生的DDI，应使用选择性更强的抑制剂，在临床研究中使用这些抑制剂可以机制性理解转运体介导的DDI。一些转运体（包括OATP1B1和BCRP）由遗传多态性基因（分别为SLCO1B1和ABCG2）编码，存在功能降低的表型。与多态性基因编码的CYP酶底物药物相似，可在具有不同转运体基因型的受试者中评价特定转运体对在研药物处置的相对贡献（请参见第4.1节）。

转运体抑制剂的示例见第7.7.3.2节。其中许多抑制剂不仅抑制特定的转运体，还可能抑制其他转运体和/或CYP酶。因此，将转运体抑制研究的结果外推至其他药物可能具有挑战性，应基于对在研药物转运和代谢途径的了解进行结果解读。

3.2.5.2作为转运体抑制剂的在研药物

如果体外研究表明在研药物是转运体抑制剂，应基于可能的合并用药和安全性考虑决定是否进行临床DDI研究。当研究在研药物作为转运体抑制剂的可能性时，应优先选择那些药代动力学特征在合用已知转运体抑制剂时会发生显著改变，且同时可能会合并用药的底物药物。DDI研究中可使用的转运体底物示例见第7.7.3.1节。由于许多药物是多种转运体和/或代谢酶的底物，如果在研药物也是这些途径的抑制剂或诱导剂，则观察到的临床DDI可能是多种途径作用的结果。

果。因此，将这些研究的结果外推至其他药物可能具有挑战性。底物药物的选择可根据在研药物的治疗领域和可能的合并用药来确定。

在某些情况下，仅靠原形药物血浆浓度的变化可能无法完全反映药物转运的改变。因此，可以考虑同时检测代谢产物或药效动力学标志物来反映药物在转运体表达器官的分布变化，从而有助于解释潜在的DDI。

最近的文献表明，某些药物转运体的内源性底物具有潜在的用途（见第3.2.7.1节）。评估在研药物给药时内源性底物暴露量的变化，可以提供在研药物作为转运体抑制剂可能性的信息。

3.2.5.3作为转运体诱导剂的在研药物

对于P-gp与CYP3A共调节的情况，例如通过PXR和/或CAR激动剂进行共调节，但P-gp的诱导性低于CYP3A（12，13），如果在研药物使CYP3A敏感底物的AUC降低 $\geq 50\%$ （即，作为中效或强效诱导剂），则应考虑以下因素进行进一步的临床研究，以评价药物对P-gp底物的潜在诱导作用：在研药物对CYP3A底物AUC的改变程度、药物与P-gp底物合并用药的可能性、是否有其他代谢酶/转运体参与P-gp底物的药代动力学且也可能受PXR和/或CAR激动剂的调节，以及P-gp底物的剂量或暴露量-效应关系。值得注意的是，某些CYP3A4诱

导剂的诱导作用被其对CYP3A的抑制作用所掩盖。因此，虽然这些药物在临床研究中抑制CYP3A4，但可能对P-gp表现出诱导效用。申办方还应考虑是否进行临床DDI研究，以评价药物对其他通过相同途径（例如，CYP3A）调节的转运体的潜在影响。

3.2.6 鸡尾酒法-CYP酶或转运体鸡尾酒法的注意事项

如果研究设计得当，鸡尾酒法可以同时评价药物对多种CYP酶和转运体的抑制或诱导可能性。鸡尾酒法包括前瞻性DDI研究的所有要素，其结果可以像任何其他设计良好的DDI研究结果一样进行解释（见3.2.1.1.至3.2.1.8）。鸡尾酒药物的选择标准包括：（a）底物对特定CYP酶或转运体具有特异性；（b）底物之间无DDI。如果不符合以上标准，则应了解底物的非特异性或底物间的DDI，并将其纳入研究结果的解释中。需要注意的是，使用微剂量的获得的结果并不总是可以外推至该底物的治疗剂量。

3.2.7 生物标志物法的基本考虑

另一种评估在研药物作为促变药可能性的方法是评估一种经过充分表征的内源性底物暴露量的变化。应进行充分的分析验证，以确保足够的质量水平和一致性，从而能够对结果进行可靠的解释。已报道的生物标志物示例包括但不限

于血浆粪卟啉I（肝脏OATP1B1/3），血浆和尿液N1-甲基烟酰胺和N1-甲基腺苷（肾OCT2, MATE1, MATE2K），血浆吡哆酸（肾OAT1/3）以及血浆4 β -羟基胆固醇/胆固醇比值和尿液6 β -羟基可的松/可的松比值（CYP3A）（14,15,16,17）。值得注意的是，并非所有内源性生物标志物都经过验证和表征以评估其性能特征，包括灵敏度、选择性、特异性、动态范围、与探针药物药代动力学参数的相关性，以及由饮食、年龄、运动、昼夜变化和疾病状态等因素引起的变异性等（18,19）。这些数据的可用性可以使申办者与监管机构基于内源性生物标志物的DDI评估的优先级、需求和设计进行沟通。

3.2.7.1 在研药物作为肝OATP1B抑制剂

例如最近的文献报道支持使用血浆粪卟啉I（CPI）对肝脏OATP1B的抑制可能性进行评估，血浆CPI的监测可以纳入早期人体健康受试者药代动力学研究中，如I期单剂量或多剂量递增研究。在研药物给药前测定的血浆CPI代表基线浓度和基线AUC_t（基线AUC_t = 基线CPI × t）。在研药物给药后连续采集的CPI样本将用于确定CPI的C_{max}和AUC。关注的指标是给予在研药物后CPI C_{max}和AUC_t与基线值的比值。如果该比值小于1.25，则表明通过OATP1B抑制发生临床DDI的可能性较低（20）。

4. 其他专题

4.1 药物遗传学

编码药物代谢酶或转运体的基因发生变异时可影响药物的药代动力学，增加药物暴露量的个体间变异影响安全性或疗效，并改变DDI的程度。重要的药物基因包括编码I相（如CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6）和II相（如NAT2、UGT1A1）药物代谢酶的基因以及编码药物转运体的基因（如BCRP、OATP1B1）。代谢酶的多态性可导致酶活性升高、正常、降低或缺失，分别导致超快代谢者（UM）、正常代谢者或快代谢者（NM或EM，以下简称NM）、中间代谢者（IM）和慢代谢者（PM）。药物转运体的多态性可增加或减少药物的跨膜转运。这些存在多态性的药物代谢酶和转运体可影响药物和/或其代谢产物的全身或组织浓度。

本节的范围仅限于评价药物遗传学对DDI和DDI评价的影响。虽然下文描述的注意事项以代谢酶为例，但此概念也适用于具有基因多态性的转运体。

如果在研药物是一种具有基因多态性的酶的底物/抑制剂，并且为了评价抑制剂/底物对该在研药物药代动力学的影响而开展的DDI研究，建议事先表征受试者的基因型。建议排除基因分型为PM的受试者，以评价最大程度下的DDI研究结果。如果未排除PM，则应根据相关情况在不同表型（例

如PM、IM和NM)的受试者中分别评价DDI效应。

如果在研药物通过具有明确定义的PM表型的酶(例如, CYP2D6、CYP2C19)发生显著代谢,则预计在PM中的暴露量与联合使用该代谢酶的强抑制剂作用效果相似。可采用强抑制剂的DDI研究来替代药物在PM表型中的研究,并将DDI的研究结果与NM表型个体中的药代动力学参数进行比较。同样,可以使用强抑制剂的体内DDI研究结果估计具有PM表型的受试者的暴露量。如果PM和NM表型个体之间的暴露量存在显著差异,则应考虑进行进一步研究,以用特定酶的中等强度抑制剂或诱导剂评价DDI可能性。

当在研药物存在两种消除途径,且其一为存在基因多态性的代谢酶时,不同基因表型可能会影响抑制剂对另一代谢酶的抑制效果。

在开展抑制其他代谢酶影响的DDI研究中除NM受试者外,需前瞻性的通过基因分型检测和富集对基因多态性代谢酶缺失或降低的受试者进行分类,有助于评估在不同基因表型中药物相互作用的程度。由于联合使用了其他代谢酶的抑制剂,故在PM或IM中DDI的程度可能会变大。综合考虑在研药物的安全性特征后,可考虑在这些受试者中使用不同的剂量。PBPK模型可用于补充此类研究或外推不同基因型中的相互作用的程度(请参见第7.3.2节)。

开展药物遗传学的回顾性分析

有助于阐明DDI研究中出现高变异性的原因。当研究的受试者并不是基于代谢酶或转运体基因多态性进行分类入组时，对关注的代谢酶或转运体进行回顾性分析有助于表征不同基因型组中DDI程度的差异，并解释为什么一些受试者的药物浓度出现非预期升高或降低。

关于前瞻性和回顾性药物遗传学分析的DNA样本采集指南见其他文件（40，41）。由于某些药物遗传学变异的频率可能因人群而异，因此在进行药物遗传学分析时，应考虑个体的人种/种族。此外，需要遵循关于人源性样本取样和分析的地区法规。

4.2 治疗性蛋白药物的DDI

一般而言，治疗性蛋白药物的药代动力学DDI风险较低。适用于小分子的体外试验通常不适用于治疗性蛋白药物。

在评价治疗性蛋白药物与小分子之间或治疗性蛋白药物之间发生DDI的可能性时，应考虑潜在DDI的作用机制，同时考虑治疗性蛋白药物的药理学特征和清除途径、以及在患者人群中的可能使用的合并用药。

寡核苷酸、小分子干扰核糖核酸、经修饰的核糖核酸和肽类药物的DDI风险评价不纳入本指导原则的阐述范围。

4.2.1 促炎细胞因子相关机制

某些治疗用蛋白药物可能对CYP酶的表达产生间接影响，从而影响小分子药物成分的药代动力学。治疗用蛋白药物是促炎细胞因子（例如，聚乙二醇干扰素）或可增加细胞因子水平时，可下调CYP酶的表达，从而减少以CYP酶为底物的药物代谢。增加其暴露水平。治疗性蛋白药物导致的细胞因子水平升高可能是短暂的，也可能是持续的；申办方在确定是否进行DDI研究以及该研究的设计时应考虑这种暴露水平增加的可能性。

相反，治疗性蛋白药物在降低体内偏高的细胞因子水平时，（例如，肿瘤坏死因子抑制剂），可缓解炎症环境（例如，类风湿性关节炎）对CYP的下调作用，从而增加CYP的表达和活性，进而减少以CYP为底物的药物暴露水平。

如果在研药物是细胞因子或细胞因子调节剂，则申办方应考虑是否进行临床DDI研究，以评价所研究的治疗性蛋白药物对CYP酶敏感底物的影响。在评价是否进行临床研究时，应考虑在炎症反应程度相似或更高炎症反应程度下药物对代谢的影响、CYP酶敏感底物在健康受试者与目标患者人群中的暴露差异、以及在研药物对细胞因子的影响程度。在某些情况下，应在相关适应症人群中进行DDI研究，以进一步指导药物说明书的撰写。在研究设计上的考虑重点包括入组患者的疾病类型和严重程度，以及促变药的剂量及给药时间。

4.2.2 抗体偶联药物

对于小分子药物与抗体药物结合的抗体偶联药物一般以非结合形式进行释放。应同时考虑抗体和小分子药物成分的潜在DDI影响。一般而言，对于小分子药物成分，其对于代谢酶和转运体的抑制或诱导应根据本指导原则其他部分的描述进行讨论。然而，在多数情况下，小分子药物成分在体内的浓度可能太低以至于不太表现为代谢酶或转运体的促变药。

了解ADC药物中小分子药物成分的形成、分布和消除过程并评价其在体内的系统暴露量是非常重要的。必要时需评价小分子药物成分作为受变药时的DDI（作为ADC药物给药时），尤其当小分子游离药物浓度升高存在潜在的安全性隐患时。了解ADC药物中各成分的暴露-效应关系对于是否开展DDI研究及其研究意义非常重要。

临床DDI研究结果的报告和解读

DDI研究报告应根据已知的DDI机制以及促变药和受变药的PK特性纳入并论证相应的研究设计和数据分析方法。药代动力学参数（以及相关的药效学参数）的数据分析应包括具有可评价PK和/或PD数据所有入组研究的受试者。如果受试者在研究期间退出或血浆浓度采样不完整，应考虑此结果是否由药物相互作用所致。报告应根据需要分别呈现包含与

不包含被排除受试者的药物相互作用效应，并提供每一位被排除者的简要描述。

5.1 药代动力学数据分析

5.1.1 非房室分析（NCA）

NCA分析应确定每例受试者的以下暴露指标： AUC_{0-inf} 、 AUC_{0-t} 、 AUC_{0-t} 至 AUC_{0-inf} 的外推百分比、 C_{max} 以及达到 C_{max} 的时间（ T_{max} ）。对于多次给药研究，还应报告稳态时的 C_{max} 、 C_{min} 、 AUC_{TAU} 。其他参数如清除率（CL或CL/F）、半衰期和分布容积有助于解释PK结果。如果检测了代谢产物，应报告相应的代谢产物参数。NCA适用于在研药物作为受变药或促变药的独立DDI研究。

5.1.2 群体PK分析

群体PK方法通常用于评价嵌套DDI研究中收集的PK数据。评价DDI时，应使用群体PK模型中所有合理的结构参数，如清除率（CL或CL/F）、相对生物利用度、吸收速率等。群体PK分析应得出适合研究设计和药物PK特性的PK参数，例如AUC和 C_{max} 。对于多次给药研究，还应当报告稳态时的 C_{max} 、 C_{min} 和 AUC_{0-TAU} 。

5.2 DDI结果的报告

DDI研究的典型药代动力学终点应包括受变药的暴露参数变化，如AUC、 C_{max} ，以及适用情况下的 C_{min} （参见章节5.1.1）。药代动力学结果报告应以几何均值比和相应90%置信区间的形式呈现，并比较有和无促变药情况下的药代动力学暴露指标。此外，还应报告DDI研究的变异性指标，如交叉研究中个体内AUC或 C_{max} 的比值范围。

DDI研究的数据呈现有多种方法。申办方可以根据数据和具体情况选择最适当的方法。数据可以图形化展示，例如使用森林图。个体药代动力学参数在有无伴随用药情况下的比较也可以图形化展示（例如，意大利面图或个体比值图）。

如果DDI研究中评估了药效学终点，应报告并总结其结果。

5.3 DDI研究结果的解读

5.3.1 无效应界值的确定

DDI研究的结果应根据受变药的无效应边界进行解读。无效应边界表示全身暴露量指标改变的临床意义不足以引起临床措施（例如，避免合并用药、剂量或方案调整，或额外的治疗监测）的边界范围。

无效应边界最好是根据临床试验得出的暴露-效应关系确定，或者根据受变药如安全性数据和最大耐受剂量等其他相关信息予以确定。充分理解预期及非预期药物效应的暴露

-效应关系，以及在适应症人群中暴露量方面的变异性有助于数据的解读。如果没有明确的暴露-效应关系，应考虑利用所有证据来确定 DDI对临床的影响。有时，默认无效应界限为80%-125% 的 90% 置信区间。该边界一般来说是可接受的，但因为暴露量的微小变化不太可能产生临床意义，对于大多数药物而言该边界过于保守。

通常情况下，受变药在有和无促变药的情况下暴露量比值的点估计值可用于评价相互作用的程度，并确定是否应考虑剂量调整等干预措施。申办方还应考虑相互作用的变异性。DDI研究纳入的受试者人数应足以对相互作用的程度和变异性提供可靠的评估。（详见ICH M12问题与解答文件）

5.3.2在研药物作为DDI促变药：分类系统

分类系统有助于将DDI研究结果外推至尚未在临床DDI研究中评价的药物。

如果在研药物为CYP抑制剂，可根据其对敏感CYP指针底物的效应将其分类为强效、中效或者弱效抑制剂。CYP抑制的分类惯例如下：

- 强效抑制剂可使敏感CYP指针底物的AUC增加 ≥ 5 倍。
- 中效抑制剂可使敏感CYP指针底物的AUC增加 ≥ 2 倍且 < 5 倍。

- 弱效抑制剂可使敏感CYP指针底物的AUC增加 ≥ 1.25 倍且 < 2 倍。

如果在研药物为CYP诱导剂，则可根据其对敏感CYP指针底物的效应将其分为强效、中效或者弱效诱导剂。CYP诱导的分类惯例如下：

- 强效诱导剂可使敏感CYP指针底物的AUC减少 $\geq 80\%$ 。
- 中效诱导剂可使敏感CYP指针底物的AUC减少 $\geq 50\%$ 且 $< 80\%$ 。
- 弱效诱导剂可使敏感CYP指针底物的AUC减少 $\geq 20\%$ 且 $< 50\%$ 。

上述分类信息通常描述了在研药物在治疗剂量范围/给药方案内以最高临床剂量和最短给药间隔的效应。需要注意的是，一些抑制剂或诱导剂的效应具有剂量依赖性。

尽管CYP抑制剂和诱导剂的分类通常基于使用敏感指针底物进行的DDI研究，但如果充分了解其他敏感底物的代谢特性，则可以根据使用替代底物的DDI研究对在研药物进行分类。

目前，尚无用于转运体或非CYP酶的分类系统。由于相互作用机制可能涉及其他转运体和/或酶，难以采用与CYP酶相同的标准进行分类。另外，相对CYP酶，转运体或非CYP酶（例如UGT）介导DDI的强度较弱。

5.3.3 研究结果的外推

在研药物与所有可能的合用药物均进行临床DDI评价是不可行的。如果可能，应当将DDI研究结果外推至其他合用药物和临床场景。使用指针药物的DDI研究结果通常代表特定机制相互作用的最大幅度，并可用于预测相同机制其他药物相互作用的幅度。CYP抑制剂和诱导剂的分类系统有助于研究结果的外推。例如，如果在与强效CYP3A指针抑制剂共同给药的情况下对在研药物的暴露量无影响，则通常可以推断其他强效、中效或者弱效CYP3A4抑制剂与在研药物共同给药时对其暴露量无影响。如果强效CYP2D6指针抑制剂可显著性提高在研药物的暴露量，则可将此类结果直接外推到其他强效CYP2D6抑制剂。在某些情况下，可使用机制模型将阳性结果外推到中效和弱效抑制剂（参见第 7.5 节）。

由于缺乏特异性的转运体底物和抑制剂，以及与代谢过程之间可能的相互作用，通常难以评估转运体介导的DDI或难以将转运体-代谢相互作用的DDI研究结果从一种药物外推至其他药物。如果对在研药物和潜在合并用药的ADME特性有充分的了解，则有可能将转运体介导的相互作用外推至其他合并用药。

5.3.3.1 复杂情况的外推

大多数DDI研究评价两种药物之间的相互作用和考虑对

单一转运体或酶的影响。然而，特定药物的DDI可能由多种机制共同导致，患者可能应用两种以上潜在相互作用的药物，且相互作用的幅度可能因不同人群而异。由此产生的一些“复杂DDI情况”如下：

- 一种药物或多种药物同时抑制酶和转运体。
- 一种药物或多种药物同时抑制多个转运体。
- 同时抑制和诱导的药物代谢途径，涉及一种或多种酶。
- 通过使用一种以上药物代谢酶的抑制剂增强对药物消除的抑制作用。
- 慢代谢者服用由两种酶代谢的底物，抑制除基因多态性酶以外的另一种酶。
- 在药物消除器官（如肝脏或肾脏）不同程度受损的受试者中，酶/转运体抑制剂的作用。
- 两种药物相互影响PK（既是促变药，也是受变药）。

当存在多种因素影响在研药物的吸收和分布以及多种DDI机制时，申办方在进行风险评估应综合考虑多种机制和/或个体因素的组合对药物暴露的影响并提出建议。可以通过整合相关体外和临床研究以及内源性生物标志物数据对复杂情况进行评估。模型预测有时可以用来判断临床研究是否产生预期的信息或为临床研究设计提供参考。

风险评估和管理

风险评估应该为DDI管理策略（例如，DDI预防和风险最小化策略）的应用提供信息。如果合并用药比单独用药导致了更大的安全性、有效性或耐受性方面的问题，则DDI具有临床相关性。

DDI管理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。风险评估和风险最小化策略的制定应考虑以下因素：

- 安全性和有效性的暴露-效应关系。
- 观察到的DDI数据的变异性（如果可以获得）。
- 合并用药的预期疗程（例如，急性期、短期或长期使用一种或两种药物）。
- 引入合并用药的预期时间。
- 发生DDI的机制（例如，可逆性或时间依赖性抑制作用、诱导作用、合并抑制和诱导作用）。
- 监测参数的可行性（例如，治疗药物监测、实验室检查）。
- 中断在研药物或产生相互作用的合并药物以及换用任一药物的可行性。
- 相关不良结果相对于药物临床获益的临床意义。
- 除上述考虑外，DDI管理策略还可以包括以下内容：（请注意，建议的措辞可能存在地区性监管

的差异。) 禁忌或避免合并用药。

- 暂时停用其中一种相互作用的药物。
- 调整其中一种药物的给药方案。
- 错时用药 (例如, 在不同于合并用药的时间应用在研药物)。
- 实施特定的监测策略 (例如, 治疗药物监测、实验室检查)。
- 用一种预计不会发生相互作用的药物替代其中一种相互作用的药物

附录

7.1 词汇表

ADC: 抗体-药物偶联物

ADME: 吸收、分布、代谢和排泄

AUC: 药物浓度-时间曲线下面积

AUC_{0-inf}: 时间从0-无穷大的AUC

AUC_{0-t}: 时间从0到最后一次可量化观测的时间 (t) 的AUC

AUC_{0-tau}: 稳态时一次给药间隔内的AUC

AUCR: 在有和无促变药存在下受变物的AUC的比值

BCRP: 乳腺癌耐药蛋白

CAR: 组成型雄甾烷受体

C_{max}: 血浆药物峰浓度

C_{max,u}: 血浆游离药物峰浓度

C_{max,inlet,u}: 进入肝脏入游离峰浓度的估计值

C_{min}: 稳态时一个给药间隔内的谷浓度

CYP: 细胞色素 P450

DDI: 药物-药物相互作用

EC₅₀: 达最大效应50%时浓度

E_{max}: 最大诱导效应

f_m: 受诱导剂或抑制剂影响的CYP酶介导的底物清除在系统清除中所占的比例

f_{u,p}: 血浆中游离药物分数

HLM: 人肝微粒体

IC₅₀: 达最大抑制效应50%时浓度

IC_{50,u}: 达最大抑制效应50%时游离浓度

指针促变药: 推荐用于独立临床 DDI 研究的药物。它具有公认的效力和选择性特征，当与敏感和特异性底物合用时，能给出预定的对特定的代谢途径产生抑制或诱导效果。

指针底物: 推荐用于独立临床 DDI 研究中用作底物的药物。它具有公认的敏感性和特异性特征，当与针对该特定消除途径的强抑制剂或诱导剂合用时，其暴露量会产生预定程度的变化。

在研药物: 研究是否影响其他药物或受其他药物影响的医药产品或正在研发的药物。

k_{deg}: 关注酶的表观一级降解速率常数

K_i: 引起最大失活50%的浓度

K_{i,u}: 引起最大失活50%的游离浓度

k_{inact}: 最大失活速率常数

K_m: 米氏常数

K_{obs}: 抑制剂引起的酶表观一级失活速率常数

MATE: 多药及毒素外排转运体

MRP: 多药耐药相关蛋白

NADPH: 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(还原型)

嵌套DDI研究: 对于临床DDI的研究作为其他研究（例如，II/III期）的一部分的一种研究方式，此时DDI评估不是整个临床研究的主要目的

无效应边界: 全身暴露量指标改变的临床意义不足以采取临床措施（例如，禁止联合给药、用药剂量或方案调整或者其他治疗监测）的区间范围。

OAT: 有机阴离子转运体

OATP: 有机阴离子转运多肽

目标药物: 酶或转运体的底物

OCT: 有机阳离子转运体

pAUC: 部分AUC。两个特定时间点间的AUC。

PBPK: 生理药代动力学

P-gp: P-糖蛋白

促变剂：可以诱导或抑制某一酶或转运体活性的药物。

探针底物：在体外试验中用于检测在研药物对某个酶的抑制或诱导特性的药物。探针底物应具备选择性，或其特定代谢物的形成对所评估的酶具有选择性。

PXR:孕烷X受体

独立DDI研究：一项主要目的是确定是否存在临床药物-药物相互作用以及相互作用程度的临床研究。

指针促变药与指针底物的DDI研究:使用指针促变药或指针底物进行的临床DDI研究，目的是研究其所在研究途径所介导的和在研药物的最大相互作用的程度，且其结果可被外推到与其他药物的联合用药中去。

TDI:时间依赖性抑制

T_{max}:达到峰浓度的时间

t_{1/2}:消除半衰期

UGT:尿苷二磷酸（UDP）-葡萄糖醛酸转移酶

7.2 蛋白结合

预测在研药物作为促变药的 DDI 风险的一个关键参数是血浆蛋白结合。长期以来，考虑到高度结合的药物蛋白质结合测量的不确定性，监管机构推荐将 $f_{u,p}$ （血浆中游离药物的比例）设定为 0.01（即 1%）。采用这种保守的方法是为了防止DDI 预测的假阴性。近年来检测方法的发展使得准

确和精密地测量高蛋白质结合药物的蛋白结合率成为可能。在选择蛋白结合检测方法时，确保为在研药物提供一个适合的方法非常重要。接下来是证明蛋白结合测定方法的准确度和精密度包括采用适当的阳性对照（即与相关血浆蛋白具有高结合率的一系列化合物）所认证的蛋白结合试验的验证数据。这些试验中使用的生物分析方法应具有在所需的灵敏度范围内具有适当的精密度和准确度（即标准曲线和质控样品为15%；定量下限为20%）。已证明具有这些特性的分析方法可用于确定在研药物的蛋白结合率（21）。当建立全新的蛋白结合测定方法时，应与先前建立并且被接受用于测定一系列高蛋白结合化合物的方法做比较（22）。

值得注意的是，在研药物的蛋白结合试验应始终包括检测方法先前已被验证的阳性对照，以确保试验结果的可靠性。阳性对照应证明在先前验证的蛋白质结合测定方法平均 $f_{u,p}$ 值的3倍以内。

7.3 基于代谢的DDI的体外评价

7.3.1 体外系统

各种肝脏体外系统可用于评价在研药物的酶介导的相互作用的风险，包括：

- 人肝组织的亚细胞组分，如微粒体系统（人肝微粒体（HLM）；含CYP450和UGT）、肝组织匀

浆9000 g离心后的上清液（S9；含微粒体以及胞浆酶，如硫酸转移酶、谷胱甘肽转移酶、醛脱氢酶、醛氧化酶和醇脱氢酶）和胞浆（适当加入辅酶因子）。建议使用至少有10个供体的混合HLM。

- 重组人CYP和UGT。这些系统通常只表达一种酶。
- 人肝组织，包括新鲜制备或冷冻保存的肝细胞，其可保存酶结构，并含有完整的I相和II相药物代谢酶。对于表型和抑制试验，建议使用至少10个供体的混合肝细胞，而对于诱导试验，通常应使用至少3个单独供体的肝细胞。

体外测试系统应具有稳定性和可重复性。

应尽量降低微粒体蛋白浓度，并应使用标准化试验条件（例如缓冲液强度和pH值）。建议采用能线性生成代谢产物（以代谢产物形成的初始速率）的孵育时间和酶量。

对于表型试验，应使用体外探针底物对系统进行表征，以证明每种酶的活性。一般而言，探针底物应具有选择性（例如，主要由单一酶代谢），或探针底物的特定代谢产物主要由单一酶形成。探针底物及其特征反应的示例见第7.6.1.1节的表4。对于时间依赖性抑制或诱导研究，应纳入适当的抑制剂或诱导剂作为阳性对照（请参见第7.4.1节）。

对于酶抑制研究，如果在研药物在孵育过程中被存在的酶代谢，则探针底物的代谢率应明显快于在研药物（如可能），以最大程度地减少在研药物代谢（浓度降低）对抑制参数计算的影响。

应使用可靠的分析方法来定量表型试验中的在研药物及其相关代谢产物，以及抑制和诱导试验中的探针底物和/或其相关代谢产物（当测量酶活性时）。不需要遵循药物非临床研究质量管理规范（GLP）标准，但应提供所采用的分析方法的完整描述。

众所周知，由于水溶性差或细胞毒性，在某些情况下可能无法在酶抑制或诱导的体外研究中达到较高的药物浓度。如果受到溶解度的限制，可使用助溶剂以达到可能的最高浓度。应使用低浓度的有机溶剂（ $<1\%$ 体积/体积，优选 $<0.5\%$ ），因为一些溶剂可以抑制或激活酶。试验应包括溶剂（载体）对照，适当时还应包括无溶剂对照，以评价溶剂对酶反应的潜在影响。目前，当无法检测足够高的浓度时，如何解释在研药物的体外抑制和诱导数据存在很大的不确定性；因此，在无法根据在研药物的药代动力学特性（如溶解度限制吸收、剂量和时间依赖性）用其它方法计算抑制和诱导参数时，建议进行临床试验评价在研药物的临床DDI风险。

在孵育体系中药物的不稳定性或非特异性结合（例如与实验材料、微粒体或肝细胞的结合）也会在酶抑制或诱导的

体外研究中带来试验挑战。通常应使用体外系统中药物的实际游离浓度（例如，孵育培养基）将体外结果外推至临床情况。非特异性结合可以通过试验（例如使用平衡透析法）测定或使用计算机模拟方法预测。对于高亲脂性药物，推荐通过试验测定非特异性结合（23）。

对于诱导试验，鼓励在与肝细胞孵育的最后一天测定培养基中原形药的浓度，并考虑非特异性结合。当培养基中的测量浓度由于非代谢/转运体相关因素导致小于理论浓度的80%时，应与监管机构讨论该差异对数据解释的潜在影响(24, 25)。

7.3.2 在研药物作为酶底物：反应表型

药物代谢酶鉴定研究，通常被称为反应表型研究，用于确定参与药物主要消除途径的特定代谢酶。与其他信息（例如临床药代动力学、物质平衡研究、药物遗传学数据或可用的DDI数据）一起，体外代谢表型数据通常用于定性和定量评估在研药物的消除途径。

尽管本指导原则的主要重点是肝脏CYP酶参与的代谢，但为了确定具体在研药物的代谢途径，对于某些药物，也应考虑非CYP酶介导的代谢以及发生在肝外组织中的代谢。

7.3.2.1 代谢途径鉴定

应在药物开发早期进行代谢途径鉴定试验，以鉴定药物代谢时形成的代谢产物的数量和结构，并确定代谢途径是平行的还是按次序的。这些试验可以使用人肝微粒体、完整的人肝脏系统（例如肝细胞）或重组酶系统。从代谢途径鉴定试验中获得的数据有助于确定是否以及如何进行反应表型研究。

7.3.2.2 代谢酶鉴定

可使用选择性酶抑制剂在人肝微粒体或肝细胞和/或人重组酶中进行反应表型鉴定。当使用单独的人源重组酶时，应考虑重组CYP酶系统和人肝脏之间CYP酶表达量和酶活性的差异。在可能的情况下，所有试验都应使用与临床剂量相关的药物浓度，并在初始速率条件下（例如，代谢产物生成速率与时间和酶浓度的呈线性关系范围内）进行。

可通过测定原形药的消耗或代谢产物的形成，检测单个酶对在研药物整体代谢的贡献。对于后一种方法，应在代谢产物形成试验中对所有主要代谢产物进行定性和定量。使用放射性标记的药物底物是有利的，因为可以使用液相色谱法与放射性检测器和质谱仪分析样品联用，从而定性和定量药物相关物质。当了解每种异构体的不同处置特性很重要时（例如，两种异构体具有不同的药理活性时），建议分别评价外消旋药物的各异构体。

一些化学抑制剂对单个CYP酶无特异性。抑制剂的选择性和抑制能力应在相同试验条件下使用单个CYP酶的探针底物进行验证(请参见第7.4.1.1节)。如果使用特异性抗体而不是抑制剂,则应在足够低和足够高的浓度下检测抗体对CYP酶的抑制作用,以建立滴定曲线并确保对特定途径的最大抑制作用(理想情况下,抑制率大于80%)。应在相同试验条件下使用每种CYP同工酶的探针底物验证抗体的作用。

对于UGT,体外研究最常使用人肝微粒体或重组UGT。当使用人肝微粒体时,需要加入丙甲菌素或超声处理以激活人肝微粒体,并添加BSA以防止长链脂肪酸的抑制(4)。由于缺乏选择性抑制剂、结果因试验条件而异、以及物质平衡研究中葡萄糖醛酸代谢产物在生物基质中不稳定等原因,确定每种UGT同工酶对整体代谢清楚的贡献具有挑战性。

7.3.3在研药物作为酶抑制剂

通常使用选择性探针底物评估在研药物抑制CYP酶的潜力,以确定抑制机制(如可逆性抑制或时间依赖性抑制(TDI))和抑制强度(如可逆性抑制的 K_i 、TDI的 K_I 和 k_{inact})。用于这些研究的体外系统包括混合供体的人肝微粒体、从重组CYP表达系统获得的微粒体或混合供体人肝细胞。

对于可逆性抑制,可先使用高浓度(例如, $50 \times C_{max,u}$ 或 $0.1 \times \text{剂量}/250 \text{ mL}$,请参见第2.1.2.1节)的在研药物进行试验,

以研究其对特定酶的抑制潜力。如果在高浓度下不能排除潜在的临床相互作用风险，则应测试较低的药物浓度以估计药物的 $IC_{50,u}$ 或 $K_{i,u}$ 值；建议评估在研药物的至少4个不同浓度。测定抑制作用的 $K_{i,u}$ 值时，应测试抑制剂和底物的不同浓度，以覆盖底物 K_m 以上和以下的范围。对于竞争性抑制或反竞争性抑制，如果孵育体系中的底物浓度与其 K_m 值相同，则 $IC_{50,u}/2$ 可作为 $K_{i,u}$ 的估计值(26)。如果底物浓度远小于 K_m 值，则 $IC_{50,u}$ 值将接近竞争性抑制剂的 $K_{i,u}$ 值。可使用Cheng-Prusoff方程根据 $IC_{50,u}$ 值更准确地估算 $K_{i,u}$ 值(8)。对于非竞争性抑制，无论使用何种底物浓度， $K_{i,u}$ 值均等于 $IC_{50,u}$ (27)。因此， $IC_{50,u}/2$ 可作为一个保守估计值。

评估在研药物的体外TDI潜在风险包括两个步骤。第一步是通过筛选确定CYP酶的TDI潜力，第二步测定抑制强度。有多种测定方法可以识别CYP酶的TDI潜力。例如，可通过评估含和不含烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)预孵育时产生的 IC_{50} 曲线的差异(即 IC_{50} 偏移)、酶活性降低(伪一级速率常数 k_{obs} 的测量)或灭活剂随时间变化的活性损失百分比来检测TDI。在 IC_{50} 偏移试验中，混合人肝微粒体通常应与含或不含NADPH的在研药物预孵育30分钟。与不含NADPH预孵育的样品相比，含NADPH预孵育的样品的 IC_{50} 曲线左移(如 ≥ 1.5 倍或2倍)，表明在研药物可能使酶失活。应纳入已知的TDI作为阳性对照，且结果应在可接受的历史范围内，

以证明试验系统的灵敏度，否则应重复测定。 IC_{50} 位移测定可采用稀释和非稀释方法。稀释测定对于筛选目的可能更敏感，因为酶的失活发生在在研药物浓度较高的情况下，而非稀释方法在药物溶解度差或代谢不稳定的情况下可能有用。

为了排除TDI，还可在在研药物的单一浓度下评价CYP酶活性随时间的降低（例如， k_{obs} 或活性损失百分比）。CYP酶活性的降低大于预先定义的阈值（例如，活性降低 $>20\%$ 或 k_{obs} 值 $>0.01 \text{ min}^{-1}$ ）可用于定义阳性结果。

当在研药物用上述方法被确定为TDI时，应在混合人肝微粒体中进行确定性体外研究，以获得TDI参数（如 k_{inact} 和 $K_{I,u}$ ），用于DDI预测。也可考虑采用人肝细胞和rhCYP进行TDI评估。

7.3.4 在研药物作为酶诱导剂

通常使用冷冻保存或新鲜分离的贴壁人肝细胞研究在研药物诱导CYP酶的潜力。也可以使用其他体外系统，例如永生化肝细胞系和细胞核受体试验，但是这些研究的结果通常被认为是支持性的，而不是确定性的。如果使用其他的体外系统作为主要方法，申办方应提供采用体外系统的适当性理由以及数据解释。

建议在mRNA表达水平上评估酶诱导的程度。也可以测量酶活性，但通常不建议仅测量酶活性，因为当同时存在抑

制作用时，可能会掩盖诱导作用。然而，在评估CYP2C19的体外诱导时，应测量酶活性，因为即使在阳性对照组其mRNA表达水平的变化通常也是有限的（28）。

无论选择哪种体外系统和检测指标，均应对系统进行验证，以证明所有主要的CYP酶有功能且可被阳性对照药物诱导。当CYP1A2、CYP2B6和CYP3A4阳性对照的响应值（mRNA倍数变化）至少增加6倍时，表明该批次肝细胞的敏感性比较合适（请参见第2.1.4.1节）（29）。CYP2C8、CYP2C9和CYP2C19的体外诱导潜力也可以测量，但即使在阳性对照（如利福平）作用下其mRNA表达水平的变化也是有限的。因此阳性对照响应值增加6倍不作为确保这些酶敏感性的强制要求。由于这些酶在阳性对照作用下mRNA表达水平增加倍数有限，因此对获得结果的结论性解释通常具有挑战性。

在研药物一般需孵育48-72小时，以达到对酶的完全诱导。如果缩短孵育时间，应给出合理的说明（28）。孵育通常包括每天添加在研药物，并应定期更换含有药物的培养基。如果药物的稳定性较差，可以考虑更频繁地添加药物。最佳孵育时间为既能检测到酶诱导而又不引起细胞毒性。当发现细胞毒性时，如果可以证明检测具有足够的灵敏度，则可以缩短孵育时间。

培养的肝细胞的质量和活性应通过细胞形态学和生化试验进行验证和记录。通常在孵育前和结束时进行适当的活

性评估，以证明细胞毒性不会影响诱导反应。如果观察到毒性/活性丧失，应在研究报告中讨论对研究结果的影响，在临床研究时也会考虑其影响。

如果一个供体的肝细胞表现为：（a）对阳性诱导对照的反应不理想，（b）孵育开始时显示活性<80%，或（c）与溶剂（载体）对照相比，在孵育结束时活性<70%，则应使用新供体的肝细胞替换该细胞。

为了排除在研药物是体外诱导剂的可能性，诱导试验要包含3个供体肝细胞，评价3-5个不同浓度，浓度范围包含 $15 \times C_{\max,u}$ ，每个浓度至少三份重复样本。可使前文描述的mRNA倍数变化法评估临床诱导潜力（请参见第2.1.4.1节）。

当存在诱导信号时，建议使用5-8个浓度开展试验以准确测定 E_{\max} 和 $EC_{50,u}$ 。可以进一步使用相关性方法或静态机制模型来预测在研药物的临床诱导效应的强度。这些方法使用完整的诱导浓度-效应曲线，以估算在研药物的 E_{\max} 和 $EC_{50,u}$ 。此外，使用这些方法之前，应对一批肝细胞进行“校正”（5）。对于相关性方法，建议使用大量一系列诱导剂（ $n \geq 8$ ）进行校正，这些诱导剂应涵盖体内诱导的全部效力范围，并且至少包括2种弱诱导剂。测定所有诱导剂的 E_{\max} 和 $EC_{50,u}$ ，并确定特定基质（结合诱导剂的 E_{\max} 和/或 $EC_{50,u}$ 和临床浓度）与每种诱导剂的特定酶的敏感底物（如咪达唑仑为CYP3A的探针底物）AUC的临床变化之间的相关性。对于机制方法，应测定

肝细胞批次的一个经验校正因子“d”因子，以实现体外至体内的诱导缩放。可以通过关联一组已知诱导剂的预测和观察到的诱导效应（即，特定酶的敏感底物的AUC比值），并进行线性回归以确定可使预测误差最小化的“d”值，来估计“d”因子（7）。如果未估算“d”因子，则应将其设定为默认值1。

对于相关性或静态机制方法，可只采用来源于一个供体的肝细胞。可对该批次肝细胞进行一次校正，无需对在研药物的每个试验进行多次校正。当进行评估在研药物诱导潜力的体外研究时，应建立可接受的检测变异性标准。为了确认实验系统的性能和灵敏度，校正应包括至少2个诱导剂（弱和强）作为对照。对照组的响应值应在规定的检测变异性标准范围内，以便使用该肝细胞批次的校正。如果使用这种方法，应同时提交校正数据/校正报告和在被研药物的数据。

7.4 基于转运体的DDI体外评价

7.4.1 体外系统

多种体外转运体试验可用于评价在研药物经转运体介导的药物相互作用的风险，可结合研究目的和需要解决的问题来选择体外模型。可使用的体外系统包括：

- 膜囊泡

转染转运体蛋白的细胞的外翻膜囊泡体外系统

可用于评价在研药物是否为外排转运体（如P-gp或BCRP）的底物或抑制剂，但可能无法确定高渗透性药物或高度的非特异性结合药物是否为其底物。

采用膜囊泡法测定P-gp和BCRP时，应直接测定三磷酸腺苷(ATP)依赖的、转运体介导的药物摄取。对于转运体底物的评估试验，应设置对照组，如单磷酸腺苷(AMP)处理的囊泡组或非转染囊泡组。

- 基于细胞的双向转运试验

细胞双向转运试验可用于评价在研药物是否为外排转运体（如P-gp或BCRP）的底物或抑制剂。

需开展双向转运试验评估底物的渗透性，并在线性转运的条件下进行。计算药物在AP→BL（吸收：顶侧至基底侧）和BL→AP（外排：基底侧至顶侧）两个方向的表观渗透率（ P_{app} ），以及BL→AP至AP→BL的外排率（ER）。

$$ER = \frac{P_{app,BL-AP}}{P_{app,AP-BL}}$$

使用转染细胞系时，将转染细胞系的外排率与适当的对照条件下的外排率进行比较，以解释内源性转运蛋白活性和非特异性结合。一种方法是比较转染细胞系与亲代或空载体转染细胞系的外排率。

$$\text{净 } ER = \frac{ER_{\text{转染}}}{ER_{\text{亲代}}}$$

应在试验前后通过测量跨上皮/跨内皮电阻（TEER）值或细胞旁路标记物的渗透性是否在提前设定的可接受范围内，以确定单层膜的完整性。

- 基于细胞的摄取试验系统

摄取试验可用于评价在研药物是否为溶质载体（SLC）转运体（如OCTs、OATs、OATPs和MATEs）的底物或抑制剂。

当使用转染细胞系评价药物是否为转运体的底物时，应将转染细胞系中的药物摄取与亲代或空载体转染细胞系进行比较，且应比较有或无转运体抑制剂时的药物摄取。当评估药物是否为转运体抑制剂时，仅使用转运体转染的细胞系评价已知探针底物的摄取便已足够。除转染细胞系外，还可以使用悬浮或贴壁培养的人肝细胞或肝细胞系。

应对模型系统和试验条件进行验证，包括培养和转运试验的条件。转运试验应在线性转运速率条件下进行（所用的探针底物浓度通常应小于其对应转运体的 K_m 值）。试验研究中应包含合适的阳性对照，以确保研究结果的有效性。此外，应对试验方法进行优化，以确保转运体的功能（例如，摄取、外排）与对照试验（例如，底物/抑制剂的阳性和阴性对照（参见第7.4.3节的表10和11）、非转染对照细胞）一致。在适用情况下，应考虑以下条件：膜囊泡或细胞的来源、细胞培养

条件（例如，细胞代数、种板密度、单层细胞培养天数）、探针底物/抑制剂浓度、孵育时间、缓冲液/pH条件、采样间隔时间以及估算 IC_{50} 、 K_i 和 K_m 等参数的方法。此外，在转运缓冲液中添加血清或血浆蛋白也可能影响转运活性。

应建立研究结果的实验室可接受标准（例如，单层细胞完整性、被动转运渗透性、探针底物的外排或摄取、探针底物的 K_m 、探针抑制剂的 IC_{50} ）。探针底物的 K_m 值或探针抑制剂的 IC_{50} 值应与文献报道的值相当。

底物应易于测量，且不受检测基质的干扰。

由于某些溶剂会影响细胞的完整性或转运体的功能，所以使用的有机溶剂的浓度应尽可能低（体积比 $<1\%$ ，优选体积比 $<0.5\%$ ）。试验应包括溶剂（赋形剂）对照，适当时（如使用非常用溶剂）还应包括无溶剂对照组，评估溶剂对转运体功能的潜在影响。

一些因素可能导致体外试验中的实际药物浓度偏离标称浓度，包括水溶性差、非特异性结合和不稳定性。鼓励申办方检测基质中的药物浓度，并在解释数据时考虑校正在研药物的结合、稳定性或溶解度等。

7.4.2 在研药物作为转运体底物

在研药物的浓度范围应与转运部位相关，并应基于预期的临床浓度范围。对于在多个器官中表达的转运体（例如P-

gp、BCRP)，应考虑转运体可能在药物处置中发挥作用的部位，提供浓度选择的依据。当一系列药物浓度具有相关性时，确保包括低浓度，因为高浓度可能会出现饱和现象。

如果体外系统表达多种转运体（例如Caco-2细胞、肝细胞），申请人应进行额外的试验，如使用两种或两种以上已知的强效抑制剂（包括对单一转运体具有相对特异性的抑制剂）来确证研究结果。

如果得出主动转运的结论，那么在不存在转运体的情况下，为了判断转运体的临床重要性，则在不存在转运体的情况下，被动渗透性是需考虑的因素之一。对于肠道转运体，如果在不存在转运体的情况下渗透性较高（ \geq 高渗透对照药物的渗透性常数），则这些转运体的作用是有限。在这种情况下，与药物的被动扩散、浓度梯度驱动的吸收相比，主动药物转运的影响可以忽略不计。为了在不存在转运体的情况下评估药物的渗透性，对于双向转运试验（例如Caco-2细胞），可以在足以完全饱和转运体的高浓度下测定渗透性常数（以ER值0.5-2为标准）。如果使用这种方法，应确保细胞单层不受影响。或者可以在广普转运抑制剂存在的条件下，测量药物的渗透性。该研究应包括一个经充分验证的高渗透性和低渗透性参比物质（例如，美托洛尔和甘露醇；请参见（55））。

7.4.3 在研药物作为转运体抑制剂

通常情况下，转运体抑制的研究从测试高浓度的受试药物开始，例如，OAT1/3和OCT2为10倍的 $C_{max,u}$ ，MATE1/2-K为50倍的 $C_{max,u}$ ，OATP1B1/3为10倍的肝入口处的 $C_{max,u}$ ，口服P-gp或BCRP抑制剂为0.1倍的最高治疗剂量/250 mL。然而，药物浓度不应超过其溶解度极限或在细胞中引起有害作用（例如，细胞毒性）。目前，当无法检测足够高的浓度时，如何将体外结果外推至体内仍存在很多的不确定性。因此，除非体外结果被充分证明是合理的，否则一般建议体内测试这些化合物的DDI可能性。

如受试药物在推荐的临界浓度下表现出抑制活性，则应测试额外的浓度以确定 IC_{50} 或 K_i 值。应使用探针底物在至少四个浓度下评估在研药物以得到 K_i 值，然后将 IC_{50} 或 K_i 值与药物的临床血浆或估算的肠道浓度进行比较，以预测DDI的可能性。

对于一些转运体（例如OATP1B1和OATP1B3）和试验系统， IC_{50} 或 K_i 的测定可能与在研药物在试验系统中的预孵育有关，，因为一些抑制剂在预孵育后显示出更强的抑制效力（30-32）。这是一个不断更新的研究领域，鼓励申办方关注最新的文献，以获得关注的转运体和相关实验方案的信息。

7.5 预测模型

本节描述了如何使用模型方法：（1）探究发生DDI的可能性，（2）明确是否需要专门开展临床DDI研究，以及（3）在没有临床DDI研究的情况下如何建议临床用药。这里涉及的模型方法分为静态机制模型和动态机制模型（也称为PBPK模型）。

各种数学和机制模型方法结合体外和早期临床研究结果将有助于基于体外试验结果预测潜在的临床DDI。

本指导原则的第2节描述了对体外代谢和转运体研究的评估，用以确定有无必要应进一步评价药物是否为CYP酶或转运体介导的相互作用的受变药或促变药。如果这些评估表明应进行进一步评价，则可以如7.5.1和7.5.2所介绍，使用静态机制模型或PBPK模型开展评价。对于某些药物开发项目，采用多种方法评估DDI风险是可行的。

根据静态机制模型或PBPK模型的结果，可能需要后续开展临床DDI研究。

采用正确的体外试验条件对于任何用于定量预测的模型都至关重要。

7.5.1使用静态机制模型进行DDI预测

静态机制模型整合了促变药和受变药的详细处置和相互作用机制（2,33,34）。该模型包括可逆和时间依赖性酶抑制、以及酶诱导的效应。因此，该模型可以估算几种相互作用

用过程的效果。促变药对受变药的总体影响可以用AUCR(存在和不存在促变药时受变药的AUC比值)来表示,并按下式计算。输入参数必须有充分的数据和/或文献支撑。

7.5.1.1在研药物作为DDI促变药的评价

对于既是酶抑制剂又是酶诱导剂的药物,除了抑制和诱导的综合效应之外,还应考察单有酶抑制时的效应(仅A和B,假设C在以下公式中等于1)和单有酶诱导时的效应(仅C,假设A和B在以下公式中等于1)。如果抑制的效果被过度预测,同时预测抑制和诱导可能导致出现假阴性的预测,从而掩盖诱导效应(35)。如果诱导效应被过度预测,抑制和诱导的同时预测将掩盖抑制效应。

7.5.1.2在研药物作为CYP介导DDI的受变药的评价

原则上,在使用指针促变药验证了静态机制模型后,该模型可用于预测抑制作用较弱的促变药的DDI。

计算底物药物AUCR的公式(AUC+在研药物/AUC-在研药物)

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

该公式假设药物的肝外清除率可以忽略不计。

A是可逆抑制的效应。

B是TDI的效应。

C 是诱导的效应。

F_g 是肠道代谢后剩余的分数。

f_m 是受抑制/诱导的CYP酶介导的底物的肝清除分数。

下标 h' 表示肝脏。

下标 g 表示肠道。

表3: 计算底物药物AUCR可逆性和时间依赖性抑制的公式

	肠道	肝脏
可逆抑制	$A_g = \frac{1}{1 + \frac{[I]_g}{K_i}}$	$A_h = \frac{1}{1 + \frac{[I]_h}{K_i}}$
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	$C_g = 1 + \frac{d \times E_{max} \times [I]_g}{[I]_g + EC_{50}}$	$C_h = 1 + \frac{d \times E_{max} \times [I]_h}{[I]_h + EC_{50}}$

每个值都可以分别用以下公式估算:

$$[I]_h = f_{u,p} \times (C_{max} + (Fa \times F_g \times ka \times \text{剂量}) / Qh / R_B) \quad (69)$$

$$[I]_g = Fa \times ka \times \text{剂量} / Q_{en} \quad (70)$$

$f_{u,p}$ 是药物在血浆中的游离分数。

如果试验测定结果 $<1\%$, 则应将 $f_{u,p}$ 设定为 1% (同样参见第2.1.2.1节)。

由于 $f_{u,p}$ 对DDI预测的潜在影响很大, 因此应针对高蛋白结合药物提供 $f_{u,p}$ 的敏感性分析。

C_{max} 是稳态时血浆中最大抑制剂总浓度 (游离部分加上结合部分)。

F_a 是口服后的吸收分数；当数据无法获得时，应取1。

F_g 是经肠代谢后剩余的分数；当数据无法获得时，应取1。

k_a 是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} (69)。

Q_{en} 是肠上皮细胞的血流量（如， 18 L/hr/70 kg (71)）。

Q_h 是肝血流量（如， 97 L/hr/70 kg (72)）。

R_B 是全血-血浆浓度比。

d 是在基于阳性对照诱导剂的校正肝细胞批次中确定的比例因子(20, 61, 63)。如果未确定，可以假设为1(20, 63)。

如果之前利用该系统做过的试验支持其他数值，也可采用(18)。

建模过程和预测结果的报告应表明建模参数是基于试验数据和/或参考文献。

如果该模型估计AUCR在0.80至1.25之间，则有临床意义的相互作用风险较低，无需对药物作为所研究酶的促变药进行额外评价。如果AUCR超出0.80至1.25范围，则应进行进一步评价以定量DDI的程度。如果不计划进行进一步评估，则申办方应提供充分的依据。

静态机制模型目前用于确定是否可以排除DDI的可能性。这种方法，包括目前用于计算肠道和肝脏中药物浓度的公式（见上文），可能过于保守，从而导致假阳性结果。但是如

果能采用更相关的肠道和肝脏中药物浓度，静态机制模型可能对DDI进行定量估计（2，34）。

对于相互作用的定量评估，研究报告应包括系统和药物依赖性参数的选用依据以及相关的敏感性分析。

7.5.1.3 转运体介导的DDI的可能性评价

尽管范例较少，但如果有足够的关于涉及的转运体和药物在各种组织中转运比例（ft）的数据，可使用下文和表3所示的静态机制模型评价转运体介导的DDI（64-68）。下文P列出的PBPK模型潜在应用和注意事项（请参见第7.3.2.2节）也与静态机制模型相关。

7.5.2 使用PBPK模型预测酶或转运体介导的DDI

PBPK模型有助于评价在研药物和/或代谢产物作为受变药或促变药引发酶或转运体介导的DDI的可能性。在将PBPK模型用于支持药物开发和监管决策时，证明模型假设、模型的生理学和生物化学合理性、变异性和不确定性指标至关重要。PBPK分析报告应包括模型使用背景的描述、模型结构和构建计划、系统和药物特异性参数的来源和合理性，以及充分的敏感性分析计划。当使用市售软件的预定义模型（结构和误差）时，应描述软件版本和与预定义模型的任何偏差。

一般而言，与PBPK模型验证、确认和结果报告的广泛建议超出了本指导原则的范围（如果有的话，可参考各地区的指南）。相反，本指导原则描述了PBPK模型在DDI评价中的实用性，并理解模型应该被证明为“符合目的”。下文还描述了使用PBPK模型评价DDI的具体规范考虑。

7.5.2.1 PBPK在评价CYP介导的DDI中的潜在应用：

与评价CYP介导的DDI相关，PBPK模型有助于选择开发项目的关键DDI研究，并引导临床DDI研究的设计。它们也可用于解释药动力学观察结果，例如观察到的由基因多态性引起的PK差异。

当评价药物是否为CYP介导DDI的潜在受变药时，在使用指针促变药验证模型后，可使用PBPK模型预测弱效促变药的DDI程度。这些模型还可以预测临床相关的DDI情况，例如，在临床DDI研究中如果仅评价单次给药，则受变药多次给药后的DDI程度也可以进行预测。

在评价药物是否作为CYP介导DDI的潜在促变药时，可使用PBPK模型证明不发生临床DDI的可能性，并在使用敏感指针底物验证模型后预测不同给药方案下的DDI程度。

7.5.2.1.1 模型考虑-PBPK评价药物作为底物时的CYP相互作用

在使用PBPK模型预测在研药物（包括临床相关代谢产物）作为CYP酶底物发生DDI可能性时，申办方应考虑以下因素：

- 在研药物的基础PBPK模型应描述使用不同给药方案（例如，剂量比例研究、多次给药）和不同给药途径（例如，静脉注射或口服）获得的临床PK数据。
- 根据现有体外和临床数据，应在在研药物的模型中定量设定所有相关器官组织中的主要代谢和其他消除途径。
- 应使用敏感性分析评估PBPK模型参数的不确定性。
- 指针促变药模型应描述使用不同给药方案（例如，剂量比例研究）和不同给药途径（例如，静脉注射或口服）获得的临床PK数据。
- 应该根据其对人体敏感酶底物的PK的调节作用来独立验证指针促变药模型的可接受性。
- 如果预期存在复杂的代谢和转运机制，则底物和促变药模型应纳入相关的处置和相互作用机制，并应被视为符合目的。

7.5.2.1.2模型考虑-PBPK评价药物作为促变药的CYP相互作用

在使用PBPK模型预测在研药物（包括临床相关代谢产

物)作为CYP酶促变药引起DDI可能性时,申办方应考虑以下因素:

- 试验用促变药(及其代谢产物,如相关)的基础PBPK模型应描述使用不同给药方案(例如,剂量比例研究、多次给药)和不同给药途径(例如,静脉注射或口服)获得的临床PK数据。
- 根据现有体外和临床数据(例如临床DDI研究),应在促变药的模型中设定DDI参数。
- 对于同时表现出抑制和诱导的促变药,除了同时预测抑制和诱导之外,还应分别考虑抑制和诱导机制,来保守预测体内酶抑制或诱导。在大多数情况下,所关注的临床相关效应是联合效应。
- 指针底物模型应描述使用不同给药方案(例如,剂量比例研究)和不同给药途径(例如,静脉注射或口服)(如适用)获得的临床PK数据。
- 敏感指针底物模型应独立证实强效指针促变药介导的酶活性改变对其在人体中PK的影响。
- 该模拟应纳入在研药物的最高临床剂量和最短给药间隔。在用于模拟之前,应确认最高剂量的PK和调节作用。
- 应对呈现出高度不确定性的参数进行敏感性分析。例如,由于 $f_{u,p}$ 对DDI预测的潜在影响较大,因此需要对

高蛋白结合药物进行 $f_{u,p}$ 的敏感性分析。

•

7.5.2.2 PBPK在评价转运体介导的DDI中的潜在应用

当评价转运体介导的DDI时，如确定DDI可能发生，可使用PBPK模型支持临床DDI研究的初始研究设计。

当评价药物是否作为存在转运体介导的DDI的潜在受变药时，可使用PBPK模型解释PK观察结果，例如由于基因多态性（例如OATP1B1）导致的PK差异。PBPK模型也可用于探索药物ADME和DDI倾向中特定转运体的参与情况。

当评价药物作为转运体介导的DDI的潜在抑制剂时，如果该药物是基底外侧摄取转运体的体外抑制剂，PBPK模型可以支持DDI的阴性预测。这些模型也可用于评价在研药物对途径充分阐明的转运体底物PK的影响。

7.5.2.2.1模型考虑-药物作为转运体底物

一般而言，定量确认特定转运体参与相关器官的模型具有挑战性。定量模型的确认应进行全面的模型探索和/或临床研究。

7.5.2.2.2模型考虑-药物作为转运体抑制剂

一般而言，当使用PBPK模型评价作为转运体抑制剂的

药物时，应确认相关转运体的底物模型。此外，分析报告应包括抑制常数的敏感性分析和DDI的相关浓度。

7.6 可用于体外研究的药物列表

7.6.1 CYP酶

7.6.1.1 用于体外研究的CYP酶底物

探针底物用于测定候选药物针对单个CYP酶（底物示例见表4；该列表并非详尽，申请人可以使用其他具有适当依据的底物/代谢物）的抑制或诱导特性。底物应该具有选择性，或者对形成特定代谢产物的CYP酶具有选择性。底物的浓度应等于或低于其反应 K_m 。

表4: CYP酶的探针底物示例 (体外研究)

CYP酶	探针底物	标记物反应
CYP1A2	非那西丁 (Phenacetin) 7-乙氧基试卤灵 (7-Ethoxyresorufin)	非那西丁 O-去乙基化反应 7-乙氧基试卤灵-O-去乙基化反应
CYP2B6	安非他酮 (Bupropion) 依法韦仑 (Efavirenz)	安非他酮羟化反应 依法韦仑羟化反应
CYP2C8	紫杉醇 (Paclitaxel) 阿莫地喹 (Amodiaquine)	紫杉醇6 α -羟化反应 阿莫地喹 N-去乙基化反应
CYP2C9	S-华法林 (S-warfarin) 双氯芬酸 (Diclofenac)	S-华法林7-羟化反应 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) 右美沙芬 (Dextromethorphan)	丁呋洛尔1'-羟化反应 右美沙芬 O-去甲基化反应
CYP3A (建议使用两种结构不同的	咪达唑仑 (Midazolam) 睾酮 (Testosterone)	咪达唑仑1'-羟化反应 睾酮6 β -羟化反应

底物)		
-----	--	--

7.6.1.2 用于体外研究的CYP酶促变药

酶抑制剂和诱导剂用于在体外对参与候选药物代谢的单个CYP酶进行表型分析。一般而言，抑制剂/诱导剂在所用浓度下应具有选择性。提供以下表格以帮助申办方设计体外研究并评价潜在相互作用（表5-7）。这些表格并不详尽，申办方可在提供适当依据的情况下使用其他抑制剂/诱导剂。

表5: CYP酶抑制剂示例（体外研究）

CYP酶	抑制剂
CYP1A2	α -萘黄酮（ α -Naphthoflavone），呋拉茶碱（Furafylline） *
CYP2B6	氯吡格雷（Clopidogrel）*、噻氯匹定（Ticlopidine）*、塞替派（Thiotepa）*
CYP2C8	吉非贝齐葡萄糖苷酸（Gemfibrozil glucuronide）*、孟鲁司特（Montelukast）、苯乙肼（Phenelzine）*
CYP2C9	磺胺苯吡唑（Sulfaphenazole）、替尼酸（Tienilic acid）*
CYP2C19	氯雷他定（Loratadine）、噻氯匹定（Ticlopidine）*
CYP2D6	帕罗西汀（Paroxetine）*、奎尼丁（Quinidine）
CYP3A	阿扎莫林（Azamulin）*、伊曲康唑（Itraconazole）、酮康唑（Ketoconazole）、竹桃霉素（Troleandomycin）*

*指定为时间依赖性抑制剂。使用时，这些抑制剂应与实验系

统一起预孵育。

表6: 主要CYP酶的转换率常数 (K_{deg}) 和半衰期 ($t_{1/2}$), 以辅助评估时间依赖性抑制

酶 (肝)	$t_{1/2}$ (hr)	K_{deg} (/min)
CYP1A2 (79)	38	0.00030
CYP2B (80)	32	0.00036
CYP2C8 (81)	22	0.00053
CYP2C9 (80)	104	0.00011
CYP2C19 (80)	26	0.00044
CYP2D6 (82, 83)	51	0.00023
CYP3A4 (10)	36	0.00032
CYP3A4 (肠道) (84, 85)	24	0.00048

表7: CYP酶诱导剂示例 (体外研究)

CYP酶	诱导剂
CYP1A2	奥美拉唑 (Omeprazole)
CYP2B6	苯巴比妥 (Phenobarbital)
CYP2C8	利福平 (Rifampicin)
CYP2C9	利福平 (Rifampicin)
CYP2C19	利福平 (Rifampicin)
CYP3A4	利福平 (Rifampicin)

7.6.2 UGT

7.6.2.1 体外研究中的UGT底物

表8中提供的列表并不详尽，申办方可在提供适当依据的情况下使用其他底物。

表8: UGT底物示例（体外研究）

UGT	底物
UGT1A1	β -雌二醇（ β -Estradiol）、PF-06409577
UGT1A3	替米沙坦（Telmisartan）
UGT1A4	三氟拉嗪（Trifluoperazine）、1'-羟基咪达唑仑（1'-Hydroxymidazolam）
UGT1A6	去铁酮（Deferiprone）、5-羟色胺醇（5-Hydroxytryptophol）、血清素（Serotonin）
UGT1A9	麦考酚酸（Mycophenolic acid）、丙泊酚（Propofol）
UGT2B7	吗啡（Morphine）、齐多夫定（Zidovudine）
UGT2B10	可替宁（Cotinine），RO5263397
UGT2B15	S-奥沙西洋（S-Oxazepam）
UGT2B17	睾酮素（Testosterone）

7.6.2.2 体外研究中的UGT抑制剂

UGT1A3、UGT1A6、UGT2B7和UGT2B15缺乏相对选择性抑制剂。在缺乏选择性抑制剂的情况下，可以采用多种方法的组合，包括使用重组UGT同工酶、表达基因多态性UGT同工酶的HLM（如适用）、相对活性因子（RAF）或相对表达因子（REF）方法以及活性相关性方法。多种抑制剂的比较研究也可能有助于评估特定亚型的参与。当使用单个重组

酶制剂时，应考虑重组酶系统和人肝脏之间UGT的量和酶活性的差异。

表9中提供的列表并不详尽，申办方可在提供适当依据的情况下使用其他抑制剂。

表9: UGT抑制剂示例（体外研究）

UGT	抑制剂
UGT1A1	尼洛替尼 (Nilotinib)、瑞戈非尼 (Regorafenib)
UGT1A3	-
UGT1A4	海柯吉宁 (Hecogenin)
UGT1A6	-
UGT1A9	厚朴酚 (Magnolol)、氟尼酸 (Niflumic acid)
UGT2B7	16 α - 和 16 β - 苯基长叶酚 (16 α - 和 16 β - Phenyllongifolol)*、氟康唑 (fluconazole)**
UGT2B10	地氯雷他定 (Desloratadine)
UGT2B15	-
UGT2B17	伊马替尼 (Imatinib)

*16 α -和16 β -苯基长叶酚也可抑制UGT2B4。尚不清楚其对UGT2B10的影响。

**氟康唑也可抑制UGT2B10和UGT2B17。

7.6.3 转运体

一些底物对单个转运体无特异性。当使用表达多种转运

体的实验系统时，优选特异性更高的底物。下表提供了用于体外研究的转运体底物和抑制剂示例（表10和11）。

表10: 转运体底物示例 (体外研究)

转运体	底物
P-gp	地高辛 (Digoxin)、N-甲基奎尼丁 (NMQ)、奎尼丁 (Quinidine)、长春碱 (Vinblastine)
BCRP	雌酮-3-硫酸酯 (Estrone-3-sulfate)、2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑并[4,5-b]吡啶 (PhIP)、哌唑嗪 (Prazosin)、瑞舒伐他汀 (Rosuvastatin)、柳氮磺吡啶 (Sulfasalazine)、荧光黄 (Lucifer Yellow囊泡体系)
OATP1B1, OATP1B3	八肽胆囊收缩素 (CCK-8, 对OATP1B3具有选择性)、雌二醇-17 β -葡萄糖苷酸 (Estradiol-17 β -glucuronide)、匹伐他汀 (Pitavastatin)、普伐他汀 (Pravastatin)、瑞舒伐他汀 (Rosuvastatin)
OAT1	阿德福韦 (Adefovir)、西多福韦 (Cidofovir)、对氨基马尿酸 (PAH)、替诺福韦 (Tenofovir)
OAT3	苄甲青霉素 (Benzylpenicillin)、雌酮-3-硫酸酯 (Estrone-3-sulfate)、甲氨蝶呤 (Methotrexate)
MATE1, MATE2-K	肌酐 (Creatinine)、二甲双胍 (Metformin)、1-甲基-4-苄基吡啶 (MPP ⁺)、四乙基氯化铵 (TEA)
OCT2	肌酐 (Creatinine)、二甲双胍 (Metformin)、四乙基氯化铵 (TEA)

表11: 转运体抑制剂示例 (体外研究)

转运体	抑制剂
P-gp	GF120918 (双P-gp/BCRP抑制剂)、维拉帕米 (Verapamil)、伐司扑达 (Valspodar, PSC833)、唑喹达 (Zosuquidar, LY335979)、环孢素 (Cyclosporine)
BCRP	烟曲霉毒素C (Fumitremorgin C), GF120918 (双P-gp/BCRP抑制剂), Ko143, 新生霉素 (Novobiocin)
OATP1B1, OATP1B3	磺溴酞钠 (BSP)、环孢素 (Cyclosporine)、利福平 (Rifampin)、利福霉素SV (Rifamycin SV)
OAT1, OAT3	苄甲青霉素 (Benzylpenicillin)*、丙磺舒 (Probenecid)
MATE1, MATE2-K	西咪替丁 (Cimetidine)、乙胺嘧啶 (Pyrimethamine)、奎尼丁 (Quinidine)
OCT2	西咪替丁 (Cimetidine), 可乐定 (Clonidine)

*OAT3的相对选择性抑制剂。

可用于临床研究的药物列表

7.7.1 CYP酶

7.7.1.1 用于临床研究的CYP酶底物

理想情况下，药物选择应基于敏感性、特异性、安全性特征和已报告的使用抑制剂的临床DDI研究，并且无研究表明该药物不符合下述标准。

- 由于抑制了某个代谢途径，预测指针底物的暴露量会增加，结果可从前瞻性临床DDI研究中获得。这些药物可以安全地与潜在抑制剂同时使用，有时需减少剂量。
- 敏感指针底物是指在临床DDI研究中，与某个代谢途径的强效指针抑制剂同时使用时，表现出AUC增加 ≥ 5 倍的指针药物。
- 中度敏感底物是指在临床DDI研究中，与某个代谢途径的强效指针抑制剂同时使用时，表现出AUC增加 ≥ 2 倍但 < 5 倍的药物。

鼓励申办方在设计DDI研究时考虑每种药物的特征。例如，一种药物可能是多种CYP或CYP加转运体的底物。在此情况下，选择研究的指针药物时应考虑指针药物作为潜在促变剂（可能抑制酶和/或转运体）的可能性。

表12中列出的药物已被确定为临床DDI研究的适当指针底物。根据上述标准，也可推荐使用其他药物。

表12: CYP酶的指针底物示例（临床研究）

CYP酶	敏感指针底物 (除非另有说明)	备注

CYP1A2	咖啡因 (Caffeine)	
CYP2B6	安非他酮 (Bupropion)	安非他酮通过CYP2B6和非CYP酶代谢。因此，其本身不是敏感底物。还应测定羟基安非他酮，因为其主要由CYP2B6生成。在确定临床意义时，应考虑羟基安非他酮浓度的变化，因为它是主要的活性分子。
CYP2C8	瑞格列奈 (Repaglinide)	也通过CYP3A代谢，但程度较轻。由OATP1B1转运。
CYP2C9	S-华法林 (S-warfarin)、氟比洛芬 (Flurbiprofen) 甲苯磺丁脲 (Tolbutamide)	中度敏感底物
CYP2C19	奥美拉唑 (Omeprazole)	也通过CYP3A代谢，但程度较轻。当涉及多个相互作用机制时，应考

		考虑测量代谢产物浓度。
CYP2D6	地昔帕明 (Desipramine)、右美沙芬 (Dextromethorphan)、 奈必洛尔 (Nebivolol)	右美沙芬也会在较小程度上被CYP3A代谢
CYP3A	咪达唑仑 (Midazolam)、三唑仑 (Triazolam)	

7.7.1.2 用于临床研究的CYP酶抑制剂

预测指针抑制剂通过特定途径抑制代谢，其结果可从前瞻性临床DDI研究中获得。强效和中等强度抑制剂是使特定代谢途径的敏感指针底物的AUC分别增加 ≥ 5 倍和 ≥ 2 倍但 < 5 倍的药物。

理想情况下，应根据抑制的强度和选择性、安全性特征以及已报告的针对不同底物的临床DDI研究来选择指针抑制剂，并且无研究表明该药物不符合上述标准。

鼓励申办方在设计DDI研究时考虑每种药物的独特特征。例如，一种药物可能抑制多种CYP或CYP加转运体。申办方应根据对参与底物处置的潜在CYP和转运体的了解，为研究选择指针抑制剂。

下表13中列出的药物已被确定为适合临床DDI研究的指针抑制剂。考虑到上述标准，可以建议使用其他药物。

表13: CYP酶的指针抑制剂示例（临床研究）

CYP酶	强效指针抑制剂	备注
CYP1A2	氟伏沙明 (Fluvoxamine)	也是CYP2C19的强抑制剂；CYP2C9、CYP2D6和CYP3A的弱抑制剂。
CYP2B6	没有针对CYP2B6的强指针抑制剂	噻氯匹定可用作CYP2B6抑制剂。它可使羟基安非他酮的生成减少80%以上。噻氯匹定也是CYP2C19的强抑制剂。
CYP2C8	吉非贝齐 (Gemfibrozil)	也抑制OATP1B1和OAT3。
CYP2C9	氟康唑 (Fluconazole, 中等强度抑制剂)	也是CYP2C19的强抑制剂；CYP3A的中等强度抑制剂。
CYP2C19	氟伏沙明 (Fluvoxamine) 氟康唑 (Fluconazole)	氟伏沙明：也是CYP1A2的强抑制剂；CYP2C9、CYP2D6和CYP3A的弱抑制剂 氟康唑：也是CYP2C9和

		CYP3A的中等强度抑制剂。
CYP2D6	氟西汀 (Fluoxetine) 帕罗西汀 (Paroxetine)	氟西汀:也是CYP 2C19的强抑制剂。
CYP3A	克拉霉素 (Clarithromycin) 伊曲康唑 (Itraconazole)	克拉霉素和伊曲康唑均可抑制P-gp。伊曲康唑还能抑制BCRP。

7.7.1.3用于临床研究的CYP酶诱导剂

表14中列出的诱导剂是根据诱导强度、安全性特征和应用不同临床底物的临床DDI研究来选择。根据诱导机制，诱导剂通常可调节多种酶和转运体的表达。

强效和中等强度诱导剂分别使特定代谢途径的敏感指针底物的AUC降低 $\geq 80\%$ 和 $\geq 50\%$ 且 $< 80\%$ 。

表14: CYP酶诱导剂示例 (临床研究) -该列表并不详尽, 可使用其他诱导剂

CYP酶	强效诱导剂	中等强度诱导剂
CYP1A2*		苯妥英 (Phenytoin)、利福平 (Rifampin)、吸

		烟
CYP2B6	卡马西平(Carbamazepine)	利福平(Rifampin)、 依 法 韦 仑 (Efavirenz)
CYP2C8		利福平 (Rifampin)
CYP2C9		利福平 (Rifampin)
CYP2C19	利福平 (Rifampin)	
CYP3A	卡马西平 (Carbamazepine)、苯妥 因 (Phenytoin)、利福平 (Rifampin)、	依 法 韦 仑 (Efavirenz)

*CYP1A2: 根据对咖啡因、替扎尼定和茶碱进行的有限数量的临床DDI研究, 苯妥因、利福平和吸烟是弱效至中等强度诱导剂。

7.7.2UGTs

可用于临床DDI研究的UGT底物和促变药如下(表15-17)。这些列表并不详尽, 可在适当的理由下使用其他底物/促变药。

表15: UGTs底物示例(临床研究)

UGT	底物	备注
UGT1A1	比克替拉韦	比克替拉韦 - 也被

	<p>(Bictegravir)、卡博特韦 (Cabotegravir)、多替拉韦</p> <p>(Dolutegravir)、SN-38 (伊立替康的活性代谢产物)</p>	<p>CYP3A代谢; 卡博特韦-也被UGT1A9代谢; 多替拉韦 - 也被 CYP3A、UGT1A3 和 UGT1A9 代谢; SN-38也被UGT1A9代谢</p>
UGT1A4	<p>拉 莫 三 嗪 (Lamotrigine)、培西达替尼 (Pexidartinib)</p>	<p>拉莫三嗪-也被UGT2B7代谢; 培西达替尼-也被CYP3A代谢</p>
UGT1A9	<p>达格列净 (Dapagliflozin)、埃格列净 (Ertugliflozin)、索格列净 (Sotagliflozin)</p>	<p>达格列净-也被CYPs代谢; 埃格列净-也被UGT2B4 和 UGT2B7 代谢; 索格列净-也被CYP3A代谢</p>
UGT2B7	<p>吲哚美辛 (Indomethacin)、萘普生 (S-Naproxen)、齐多夫定 (Zidovudine)</p>	<p>吲哚美辛和萘普生生成的酰基葡萄糖醛酸酯有可能通过 OAT1/3 转运, 如果与 OAT1/3 抑制剂合用, 可考虑采用其他方案。</p> <p>齐多夫定-也被UGT2B4代谢</p>

UGT2B15	劳拉西洋 (Lorazepam)、奥沙西洋 (Oxazepam)	劳拉西洋和奥沙西洋的S-对映体均被UGT2B15代谢，而R-对映体也被其他UGT2B和UGT1A9代谢
---------	----------------------------------	---

表16: UGT抑制剂示例 (临床研究)

UGT	抑制剂
UGT1A1	阿扎那韦 (Atazanavir) *
UGT1A4	丙磺舒 (Probenecid) **、丙戊酸 (Valproic acid, 也抑制UGT2B7)
UGT1A9	甲芬那酸 (Mefenamic Acid)
UGT2B7	丙磺舒 (Probenecid)
UGT2B15	丙磺舒 (Probenecid)

*阿扎那韦也是CYP3A的抑制剂。

**丙磺舒是OAT1和OAT3转运体的抑制剂。

表17: UGT诱导剂示例 (临床研究)

UGT	诱导剂
UGT1A1	卡马西平 (Carbamazepine)、依法韦仑 (Efavirenz)、苯巴比妥 (Phenobarbital)、利福平 (Rifampin)、圣约翰草 (St. John's wort)、替拉那韦 (Tipranavir) 与利托那韦

	(ritonavir) 合用
UGT1A4	卡马西平 (Carbamazepine)、洛匹那韦 (Lopinavir) 联合利托那韦 (ritonavir)、苯巴比妥 (Phenobarbital)、苯妥因 (Phenytoin)、利福平 (Rifampin)
UGT1A9	利福平 (Rifampin)
UGT2B7	利福平 (Rifampin)
UGT2B15	利福平 (Rifampin)，苯妥英 (Phenytoin)

7.7.3 转运体

7.7.3.1 用于临床研究的转运体底物

表18列出了可用于临床DDI研究的转运体底物。其中许多是多种转运体和/或酶的底物。如前所述(参见第3.2.5节)，目前尚无转运体的指针底物。因此，将这些研究的结果外推至其他药物可能具有挑战性。。解释研究结果时应考虑对在研药物的转运体抑制特性及其对代谢酶的影响。最有用的方法是选择一种转运体底物，这种底物可能用于在研药物的预期患者人群。

在与转运体的已知抑制剂联合给药后，所列底物的PK特征会显著改变，并符合以下标准。此外，它们在临床DDI研究中使用通常是安全的。

标准

根据以下标准选择推荐的转运体底物可用于DDI研究，以表征药物的转运体抑制特性。选择药物时应采用临床相关剂量的研究结果。在可能的情况下，可选择与全球药物开发计划高度相关的药物。

- **P-gp:** (1) 与伊曲康唑、奎尼丁或维拉帕米联合给药时，AUC增加倍数 ≥ 2 倍，(2) 通过P-gp表达系统进行体外转运，以及(3) 在体内没有广泛代谢。
- **BCRP:** (1) 随着ABCG2的遗传药理学改变，AUC的增加倍数 ≥ 2 倍(421C>A)，以及(2) 通过BCRP表达系统进行体外转运。
- **OATP1B1/OATP1B3:** (1) 与利福平(单次给药)或环孢素联合给药或SLCO1B1的药物遗传学改变(521T>C)，AUC增加倍数 ≥ 2 倍，，以及(2) 通过OATP1B1或OATP1B3表达系统进行体外转运。
- **OAT1/OAT3:** (1) 与丙磺舒联合给药时，AUC增加倍数 ≥ 2 倍，(2) 以原型药形式经尿液排泄的分数 ≥ 0.5 ，以及(3) 通过OAT1和/或OAT3表达系统进行体外转运。
- **OCT2/MATE:** (1) 与多替拉韦或乙胺嘧啶合用时，AUC增加倍数 ≥ 2 倍；(2) 以原型药形式经尿液排泄的分数 ≥ 0.5 ，以及(3) 通过OCT2和/或MATE表达系统进行体外转运。

注：该列表并不详尽，如果已充分了解药物的转运特性，且与上述标准相似，则申办方可以使用表中未列出的底物。

表18：转运体底物示例（临床研究）

转运体	底物	备注*
P-gp	达比加群酯 （ Dabigatran etexilate ） 地高辛（ Digoxin ） *** 非索非那定 （ Fexofenadine ）	达比加群酯** - 仅受肠道 P-gp影响。 非索非那定 - 也是 OATP1B1、1B3和2B1的 底物。
BCRP	瑞舒伐他汀 （ Rosuvastatin ） 柳氮磺吡啶 （ Sulfasalazine ）	瑞舒伐他汀 - 也是 OATP1B1、1B3、2B1和 OAT3的底物。 柳氮磺吡啶 - 仅受肠道 BCRP影响。
OATP1B1, OATP1B3	阿托伐他汀 （ Atorvastatin ） 波生坦（ Bosentan ） 匹伐他汀 （ Pitavastatin ） 普伐他汀	阿托伐他汀 - 也是 BCRP、P-gp和CYP3A的 底物。 普伐他汀 - 也是MRP2和 OAT3的底物。 瑞舒伐他汀也是BCRP、

	<p>(Pravastatin)</p> <p>瑞舒伐他汀</p> <p>(Rosuvastatin)</p> <p>辛伐他汀酸</p> <p>(Simvastatin acid)</p>	<p>OAT3 和 OATP2B1 的底物。</p> <p>辛伐他汀-也是 CYP3A 的底物。</p>
<p>OAT1</p> <p>OAT3</p>	<p>阿德福韦</p> <p>(Adefovir)</p> <p>巴瑞替尼</p> <p>(Baricitinib)</p> <p>头孢克洛</p> <p>(Cefaclor)</p> <p>呋塞米</p> <p>(Furosemide)</p> <p>奥司他韦羧酸盐</p> <p>(Oseltamivir carboxylate) 青霉素 G</p>	<p>阿德福韦****-OAT1的贡献大于OAT3。</p> <p>巴瑞替尼、头孢克洛和青霉素G OAT3的贡献大于OAT1。</p> <p>呋塞米 - 是 OAT1/OAT3 的双重底物，也是 BCRP、OATP2B1 和 UGT 的底物。</p>
<p>MATE1 ，</p> <p>MATE2-K，</p> <p>OCT2</p>	<p>二甲双胍</p> <p>(Metformin)</p>	

*由于认识的不断深入，表中列出的一些药物可能是此处未列出的其他转运体的底物。

***达比加群酯是一种前药，通过羧酸酯酶（CES）转化为达比加群，达比加群是被测定的分子（达比加群不是P-gp的底物）。因此，为了正确解释临床DDI结果，应考虑预先评估在研药物对CES活性的抑制作用。*

****对于P-gp，可以通过地高辛的肾清除率来确定肾脏抑制作用。*

*****阿德福韦酯是一种前药，通过羧酸酯酶（CES）转化为阿德福韦，后者是OAT1和OAT3的底物。阿德福韦是在DDI研究中检测的分子。因此，为了正确解释临床DDI结果，应考虑预先评估在研药物对CES活性的抑制作用。阿德福韦酯是P-gp的底物。*

7.7.3.2用于临床研究的转运体抑制剂

表19列出了可用于临床DDI研究的转运体抑制剂。其中许多不仅抑制特定的转运体，而且还可抑制一些其他的转运体和/或CYP酶。如前所述（参见第3.2.5节），由于没有针对转运体的指针抑制剂，因此将这些研究的结果外推至其他药物可能具有挑战性。解释研究结果时应考虑对在研药物的转运和代谢/消除途径的了解。最有用的方法是选择一种转运体抑制剂，这种抑制剂很可能用于在研药物的预期患者群体。

列出的抑制剂可导致联合给药后转运体已知底物的PK特征显著改变，符合以下标准。此外，它们在临床DDI研究

中使用通常是安全的。

标准

根据以下标准选择推荐的转运体抑制剂用于DDI研究，以表征药物作为转运体底物的特性。选择药物时应采用临床相关剂量的研究结果。在可能的情况下，选择与全球药物开发计划高度相关的药物。

- **P-gp:** (1) 与地高辛、达比加群酯或非索非那定联合给药时，AUC增加 ≥ 2 倍，以及(2)体外抑制剂。
- **BCRP:** (1) 与瑞舒伐他汀联合给药时，AUC增加 ≥ 2 倍或接近2倍，以及(2)体外抑制剂。
- **OATP1B1/OATP1B3:** (1) 联合给药时，至少一种临床底物的AUC增加 ≥ 2 倍，以及(2)体外抑制剂。
- **OAT1/OAT3:** (1) 联合给药时，至少一种临床底物的AUC增加 ≥ 2 倍，以及(2)体外抑制剂。
- **OCT2/MATE:** (1) 与二甲双胍联合给药时，AUC增加 ≥ 2 倍，以及(2)体外抑制剂。

注：该列表并不详尽，如果已充分了解药物的转运体抑制特性，且与上述标准相似，则申办方可以使用表中未列出的抑制剂。

表19: 转运体抑制剂示例（临床研究）

转运体	抑制剂	备注
P-gp	伊曲康唑	伊曲康唑 - 也抑制

	(Itraconazole) 奎尼丁 (Quinidine) 维拉帕米 (Verapamil)	BCRP和CYP3A 维拉帕米 - 也抑制 CYP3A
BCRP	环孢霉素 (Cyclosporine) 达罗他胺 (Darolutamide) 福坦替尼 (Fostamatinib)	环孢素 - 也抑制 CYP3A、OATP1B1、 1B3、MRP2和P-gp。 福坦替尼-也抑制P-gp
OATP1B1, OATP1B3	利福平 (Rifampin, 单次给药) 环孢素 (Cyclosporine)	利福平-也抑制P-gp 环孢素 - 也抑制 CYP3A、MRP2、P-gp和 BCRP
OAT1 , OAT3	丙磺舒 (Probenecid)	丙磺舒 - 也抑制 OATP1B1。
MATE1 , MATE2-K, OCT2	多替拉韦 (Dolutegravir) 乙胺嘧啶 (Pyrimethamine)	多替拉韦 - 通常对 OCT2 的抑制比对 MATEs更强 乙胺嘧啶 - MATE的相 对特异性抑制剂

8.参考文献

1. Rodrigues AD. Prioritization of clinical drug interaction studies using in vitro cytochrome P450 data: proposed refinement and expansion of the "rank order" approach. *Drug Metab Lett.* 2007;1(1):31-5.
2. Tseng E, Eng H, Lin J, Cerny MA, Tess DA, Goosen TC, et al. Static and dynamic projections of drug-drug interactions caused by cytochrome P450 3A time-dependent inhibitors measured in human liver microsomes and hepatocytes. *Drug Metab Dispos.* 2021;49(10):947-60.
3. Miners JO, Polasek TM, Hulin JA, Rowland A, Meech R. Drug-drug interactions that alter the exposure of glucuronidated drugs: Scope, UDP-glucuronosyltransferase (UGT) enzyme selectivity, mechanisms (inhibition and induction), and clinical significance. *Pharmacol Ther.* 2023;248:108459.
4. Miners JO, Rowland A, Novak JJ, Lapham K, Goosen TC. Evidence-based strategies for the characterization of human drug and chemical glucuronidation in vitro and UDP1glucuronosyltransferase reaction phenotyping. *Pharmacol Ther.* 2021;218:107689.
5. Fahmi OA, Ripp SL. Evaluation of models for predicting drug-drug interactions due to induction. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2010;6(11):1399-416.
6. Zhang JG, Ho T, Callendrello AL, Clark RJ, Santone EA, Kinsman S, et al. Evaluation of calibration curve-based approaches to predict clinical inducers and noninducers of CYP3A4 with plated human hepatocytes. *Drug Metab Dispos.* 2014;42(9):1379-91.
7. Vermet H, Raoust N, Ngo R, Esserméant L, Klieber S, Fabre G, et al. Evaluation of normalization methods to predict CYP3A4 induction in six fully characterized cryopreserved human hepatocyte preparations and HepaRG cells. *Drug Metab Dispos.* 2016;44(1):50-60.
8. Cheng Y, Prusoff WH. Relationship between the inhibition constant (K₁) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol.* 1973;22(23):3099-108.
9. Durk MR, Jones NS, Liu J, Nagapudi K, Mao C, Plise EG, et al. Understanding the effect of hydroxypropyl-β-cyclodextrin on fenebrutinib absorption in an itraconazole-fenebrutinib drug-drug interaction study. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;108(6):1224-32.
- 10.
11. Huppertz A, Ott C, Bruckner T, Foerster KI, Burhenne J, Weiss J, et al. Prolonged-release tacrolimus is less susceptible to interaction with the strong CYP3A inhibitor voriconazole in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 2019;106(6):1290-8.
12. Bonate PL, Ahamadi M, Budha N, de la Peña A, Earp JC, Hong Y, et al. Methods and strategies for assessing uncontrolled drug-drug interactions in population pharmacokinetic analyses: results from the

- International Society of Pharmacometrics (ISOP) Working Group. *J Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 2016;43(2):123-35.
13. Elmeliy M, Vourvahis M, Guo C, Wang DD. Effect of P-glycoprotein (P-gp) inducers on exposure of P-gp substrates: Review of clinical drug-drug interaction studies. *Clin Pharmacokinet.* 2020;59(6):699-714.
 14. Zamek-Gliszczyński MJ, Patel M, Yang X, Lutz JD, Chu X, Brouwer KLR, et al. Intestinal P1gp and putative hepatic OATP1B induction: International Transporter Consortium perspective on drug development implications. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109(1):55-64.
 15. Chu X, Liao M, Shen H, Yoshida K, Zur AA, Arya V, et al. Clinical probes and endogenous biomarkers as substrates for transporter drug-drug interaction evaluation: Perspectives from the International Transporter Consortium. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;104(5):836-64.
 16. Willemin ME, Van Der Made TK, Pijpers I, Dillen L, Kunze A, Jonkers S, et al. Clinical Investigation on Endogenous Biomarkers to Predict Strong OAT-Mediated Drug-Drug Interactions. *Clin Pharmacokinet.* 2021;60(9):1187-1199.
 17. Mao, J., Martin, I., McLeod, J., Nolan, G., van Horn, R., Vourvahis, M., et al. Perspective: 4 β 1hydroxycholesterol as an emerging endogenous biomarker of hepatic CYP3A. *Drug Metab Rev,* 2017;49(1):18–34
 18. Galteau, MM, and Shamsa F. Urinary 6 β -hydroxycortisol: a validated test for evaluating drug induction or drug inhibition mediated through CYP3A in humans and in animals. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003;59(10): 713-33.
 19. Gass RJ, Gal J, Fogle PW, Detmar-Hanna D, Gerber JG. Neither dapson hydroxylation nor cortisol 6 β detects the inhibition of CYP3A4 by HIV-1 protease inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol.* 1998;54: 741-747.
 20. Rodrigues AD, Taskar KS, Kusuhara H, Sugiyama Y. Endogenous probes for drug transporters: balancing vision with reality. *Clin Pharmacol Ther.* 2018; 103(3), 434–448.
 21. Kikuchi R, Chothe PP, Chu X, Huth F, Ishida K, Ishiguro N, et al. Utilization of OATP1B biomarker coproporphyrin-I to guide drug–drug interaction risk assessment: Evaluation by the pharmaceutical industry. *Clin Pharmacol Ther.* 2023;114(6):1170-1183.
 22. Di, L., Breen, C., Chambers, R., Eckley, ST., Fricke, R., Ghosh, A., et al. Industry perspective on contemporary protein-binding methodologies: considerations for regulatory drug-drug interaction and related guidelines on highly bound drugs. *J Pharm Sci.* 2017;106(12):3442–3452.
 23. Ryu, S., Riccardi, K., Patel, R., Zueva, L., Burchett, W., Di, L.. Applying two orthogonal methods to assess accuracy of plasma protein binding measurements for highly bound compounds. *J Pharm Sci.*

- 2019;108(11):3745–3749.
24. Winiwarter S, Chang G, Desai P, Menzel K, Faller B, Arimoto R, et al. Prediction of fraction unbound in microsomal and hepatocyte incubations: A comparison of methods across industry datasets. *Mol Pharm.* 2019;16(9):4077-85.
 25. Sun Y, Chothe PP, Sager JE, Tsao H, Moore A, Laitinen L, et al. Quantitative prediction of CYP3A4 induction: Impact of measured, free, and intracellular perpetrator concentrations from human hepatocyte induction studies on drug-drug interaction predictions. *Drug Metab Dispos.* 2017;45(6):692-705.
 26. Chang C, Yang X, Fahmi OA, Riccardi KA, Di L, Obach RS. An exposure-response analysis based on rifampin suggests CYP3A4 induction is driven by AUC: an in vitro investigation. *Xenobiotica.* 2017;47(8):673-81.
 27. Haupt LJ, Kazmi F, Ogilvie BW, Buckley DB, Smith BD, Leatherman S, et al. The reliability of estimating K_i values for direct, reversible inhibition of cytochrome P450 enzymes from corresponding IC_{50} values: A Retrospective Analysis of 343 Experiments. *Drug Metab Dispos.* 2015;43(11):1744-50.
 28. Cer RZ, Mudunuri U, Stephens R, Lebeda FJ. IC_{50} -to- K_i : a web-based tool for converting IC_{50} to K_i values for inhibitors of enzyme activity and ligand binding. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(Web Server issue):W441-5.
 29. Wong SG, Ramsden D, Dallas S, Fung C, Einolf HJ, Palamanda J, et al. Considerations from the Innovation and Quality Induction Working Group in response to drug-drug interaction guidance from regulatory agencies: guidelines on model fitting and recommendations on time course for in vitro cytochrome P450 induction studies including impact on drug interaction risk assessment. *Drug Metab Dispos.* 2021;49(1):94-110.
 30. Chu V, Einolf HJ, Evers R, Kumar G, Moore D, Ripp S, et al. In vitro and in vivo induction of cytochrome P450: A survey of the current practices and recommendations: A Pharmaceutical Research and Manufacturers of America perspective. *Drug Metab Dispos.* 2009;37(7):1339-54.
 31. T árai P, Schweigler P, Poller B, Domange N, de Wilde R, Hanna I, et al. A systematic in vitro investigation of the inhibitor preincubation effect on multiple classes of clinically relevant transporters. *Drug Metab Dispos.* 2019;47(7):768-78.
 32. Farasyn T, Pahwa S, Xu C, Yue W. Pre-incubation with OATP1B1 and OATP1B3 inhibitors potentiates inhibitory effects in physiologically relevant sandwich-cultured primary human hepatocytes. *Eur J Pharm Sci.* 2021;165:105951.
 33. Gertz M, Cartwright CM, Hobbs MJ, Kenworthy KE, Rowland M,

- Houston JB, et al. Cyclosporine inhibition of hepatic and intestinal CYP3A4, uptake and efflux transporters: application of PBPK modeling in the assessment of drug-drug interaction potential. *Pharm Res.* 2013;30(3):761-80.
34. Fahmi OA, Maurer TS, Kish M, Cardenas E, Boldt S, Nettleton D. A combined model for predicting CYP3A4 clinical net drug-drug interaction based on CYP3A4 inhibition, inactivation, and induction determined in vitro. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(8):1698-708.
 35. Ramsden D, Perloff ES, Whitcher-Johnstone A, Ho T, Patel R, Kozminski KD, et al. Predictive in vitro-in vivo extrapolation for time dependent inhibition of CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 using pooled human hepatocytes, human liver microsomes, and a simple mechanistic static model. *Drug Metab Dispos.* 2022;50(2):114-127.
 36. Einolf HJ, Chen L, Fahmi OA, Gibson CR, Obach RS, Shebley M, et al. Evaluation of various static and dynamic modeling methods to predict clinical CYP3A induction using in vitro CYP3A4 mRNA induction data. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;95(2):179-88.
 37. Ito K, Iwatsubo T, Kanamitsu S, Ueda K, Suzuki H, Sugiyama Y. Prediction of pharmacokinetic alterations caused by drug-drug interactions: metabolic interaction in the liver. *Pharmacol Rev.* 1998;50(3):387-412.
 38. Yang J, Jamei M, Yeo KR, Tucker GT, Rostami-Hodjegan A. Prediction of intestinal first-pass drug metabolism. *Curr Drug Metab.* 2007;8(7):676-84.
 39. Yang J, Jamei M, Yeo KR, Rostami-Hodjegan A, Tucker GT. Misuse of the well-stirred model of hepatic drug clearance. *Drug Metab Dispos.* 2007;35(3):501-2