

华法林钠片在健康受试者生物等效性试验中的安全性分析

王璿, 高琳艳, 张兰, 胡朝英*

首都医科大学宣武医院 药学部 I 期临床研究中心, 北京 100053

摘要: **目的** 探讨健康受试者参加华法林钠片生物等效性试验的安全性。**方法** 收集 2017—2020 在首都医科大学宣武医院开展的 4 项随机、开放、四周期、交叉对照设计的华法林钠片生物等效性 (BE) 试验中 188 例受试者, 比较空腹与餐后给药所发生不良事件 (TEAEs) 的差异及 TEAEs 与性别和年龄的相关性。**结果** 4 个试验中共报告了 116 例次 TEAEs, 与试验药物相关的 TEAEs 29 例次, 均属于轻度, 主要为凝血功能指标异常 (14 例次) 和肝功能指标异常 (10 例次)。餐后给药试验中肝功能指标异常的发生例次多于空腹给药试验 (8:2), 与试验药物具有相关性的 TEAEs 发生率出现随年龄增加而增高的趋势。**结论** 健康受试者参加 BE 试验单次口服华法林钠片的安全性良好, 与试验药物相关的不良事件多与华法林的药理机制有关, 年龄是不良事件发生类型和发生率的潜在影响因素。

关键词: 华法林钠片; 生物等效性试验; 安全性; 治疗引起的不良事件; 凝血功能; 肝功能

中图分类号: R965.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2022)09-1927-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.09.005

Safety analysis on bioequivalence studies of Warfarin Sodium Tablets in healthy subjects

WANG Jin, GAO Lin-yan, ZHANG Lan, HU Chao-ying

Phase I Clinical Trial Center, Department of Pharmacy, Xuanwu Hospital Capital Medical University, Beijing 100053, China

Abstract: Objective To investigate the safety of healthy subjects participating in the bioequivalence test of Warfarin Sodium Tablets. **Methods** A total of 188 subjects in a randomized, open, four-cycle, cross-control BE trial of Warfarin Sodium Tablets conducted in Xuanwu Hospital Capital Medical University from 2017 to 2020 were collected to compare the difference of adverse events (TEAEs) between fasting and postprandial administration and the correlation between TEAEs and sex and age. **Results** A total of 116 cases of TEAEs were reported in the four trials, and 29 cases of TEAEs related to experimental drugs were mild, mainly abnormal blood coagulation index (14 cases) and abnormal liver function index (10 cases). The incidence of abnormal liver function in postprandial administration test was higher than that in fasting administration test (8:2). The incidence of TEAEs related to experimental drugs increased with age. **Conclusion** A single oral administration of Warfarin Sodium Tablet in healthy subjects was safe. Most drug-related adverse events were caused by the pharmacological mechanism of warfarin, and subject's age was a potential factor influenced the type and incidence of adverse events.

Key words: Warfarin Sodium Tablets; bioequivalence test; safety; treatment emergent adverse events; coagulation function; liver function

华法林是经典的抗凝药物, 通过拮抗维生素 K 发挥作用, 主要用于治疗血栓栓塞性疾病、预防血栓形成, 半个多世纪以来挽救了无数患者的生命。目前虽然有利伐沙班、达比加群等新型口服抗凝药物问世, 华法林因其确切的疗效, 适应人群广泛、

明确的抗凝评价指标、明显的经济学优势^[1], 在临床诊疗中仍有不可取代的价值^[2]。目前国内有多个厂家生产该药, 均需要开展仿制药一致性评价, 需要在健康受试者中开展生物等效性试验。但华法林属于窄治疗指数 (NTI) 药物^[3], 血药浓度的微小

收稿日期: 2022-03-25

基金项目: 北京市医院管理中心“登峰”计划专项经费资助 (DFL20190803); 首都科技领军人才 (Z191100006119017); 北京市医院管理中心“青苗”计划专项经费资助 (QMS20200811); 首都卫生发展科研专项 (首发 2022-2Z-20113)

作者简介: 王璿, 男, 医师, 研究方向为新药早期临床试验。E-mail: cy_64341266@163.com

*通信作者: 胡朝英, 女, 副主任药师, 研究方向为神经药理学和早期药物临床试验。E-mail: hucarol@126.com

变化即可能导致治疗失败和（或）严重不良反应。与一般化学药物相比^[4]，窄治疗指数药物进行生物等效性评价时，应采用更严格的等效性判定标准，以保证有效性和安全性，其生物等效区间有所缩窄^[5]。

除有效性外，安全性评价也是仿制药物与原研药物之间对比的重要方面。仿制药质量受到除诸如原料药、辅料、生产工艺等多方面影响^[6]，即使二者吸收速度和吸收程度差异在可接受范围内，其安全性也值得研究比对。故本研究从安全性角度分析生物等效性试验中发生的不良事件、总结安全性信息，为后续华法林钠片的生物等效性试验提供参考；同时提醒同行，在生物等效性试验中，除了关注主要药动学参数是否生物等效外，要更加关注受试制剂和参比制剂的安全性是否同样等效。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究纳入 4 项华法林钠片生物等效性试验中 188 位受试者所发生的 116 例治疗引起的不良事件（TEAEs）。这 4 项试验均采用随机、开放、交叉对照、单次给药的试验设计，均获首都医科大学宣武医院伦理委员会批准。所有受试者均在每周口服一次受试制剂或参比制剂。受试制剂为 3 家不同制药企业所生产的华法林钠片（规格 2.5 mg/片），参比制剂均为百时美施贵宝公司生产的华法林钠片（规格 2.5 mg/片）。4 项试验共成功纳入 188 例合格受试者，其中男性 134 例，女性 54 例，平均年龄（32.51±8.16）岁，平均体质质量指数（22.83±1.91）kg/m²，见表 1。

表 1 健康受试者基本信息（ $\bar{x} \pm s$ ）

Table 1 Basic information of healthy subjects ($\bar{x} \pm s$)

组别	n/例(男/女)	年龄/岁	体质质量指数/(kg·m ⁻²)
空腹	94 (64/30)	35.35±8.27	23.01±1.78
餐后	94 (70/24)	29.68±7.01	22.65±2.03

1.2 纳入和排除标准

入选标准：（1）年龄≥18 周岁的男性或女性受试者；（2）男性体质质量≥50 kg，女性体质质量≥45 kg，体质质量指数在 19~28 kg/m²；（3）身体健康，通过筛选体检；（4）同意试验结束后 6 个月内采取有效避孕措施；（5）签订知情同意书。

排除标准：（1）对试验药物过敏；（2）吸烟超过每日 5 支，酗酒者；（3）试验前 4 周使用任何其他药物；（4）心电图、体格检查、实验室检查异常

且有临床意义。

1.3 药物

3 家不同制药企业所生产的华法林钠片（规格 2.5 mg/片）；百时美施贵宝公司生产的华法林钠片（规格 2.5 mg/片）。受试制剂批号 191002PL、72191002、17F0051DC8，参比制剂批号 AAZ1609A1、HH0142。

1.4 分组和给药方案

所收集的 4 项华法林钠片生物等效性试验按照指导原则的要求，均需分别开展空腹给药试验和餐后给药试验。体检合格受试者根据试验计划，进入空腹组或餐后组；在同一组中，受试者服用受试制剂或参比制剂的顺序随机产生，以四周期、交叉对照试验为例，服药顺序为“受试-参比-受试-参比”或“参比-受试-参比-受试”。4 项试验所有涉及的受试制剂和参比制剂给药方法均相同。所有空腹给药受试者在给药前均禁食 10 h 以上，给药当日早餐空腹状态下用 240 mL 温水送服相应的试验药物，给药前后 1 h 内禁水，给药后 4 h 内禁食，4 h 后进食午餐，10 h 后进食晚餐；所有餐后给药试验受试者在给药前 30 min 开始进食高脂肪高热量早餐，用餐时间 30 min，其余和空腹给药试验相同。

1.5 研究指标

本研究收集入选受试者人口学资料、发生的 TEAEs，包括严重不良事件（SAE）。TEAEs 与药物的因果关系判断采用五分法^[7]。分别分析与药物相关的 TEAEs（包括肯定有关、很可能有关、可能有关）及与药物不相关的 TEAEs（包括可能无关、肯定无关），比较空腹给药与餐后给药、不同性别和不同年龄段发生相关 TEAEs 的受试者数、TEAEs 例次、TEAEs 发生率、严重程度、与试验药物关系和转归等。

1.6 不良反应

给药后所有受试者均住院观察至 72 h，出院前进行安全性检查，包括生命体征、体格检查、心电图、血常规、血生化（肝、肾功能、血脂、血糖、电解质）、尿常规、凝血功能（凝血酶原时间、活化部分凝血活酶时间、凝血酶时间、纤维蛋白原）。从首次给药至最后一次随访期间，观察和问询受试者的不适主诉。

1.7 统计分析

采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计学分析，计数资料以例（率）表示，用 χ^2 检验比较组间差异。

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异用 t 检验比较。

2 结果

2.1 受试者发生 TEAEs 情况

4 项试验共 71 例受试者 (37.77%) 发生 116 例次 TEAEs, 包括 1 项 SAE。其中与试验药物相关的 TEAEs 共 29 例次, 无关的 TEAEs 共 87 例次, 全部纳入统计分析。29 例与试验药物相关的 TEAE 程度较轻, 均为 1 级, 通过观察及随访, 未经药物治疗, 均完全恢复。试验中脱落受试者 13 例, 3 例受试者因 TEAE (均与试验药物无关) 退出, 9 例受试者因个人原因退出, 1 例受试者失访, 见表 2、3。

2.2 空腹与餐后给药组 TEAEs 发生情况比较

餐后给药组肝功能指标异常发生例次多于空腹给药组 (8:2), 两组 TEAEs 发生例次的差异没有统计学意义, 在严重程度、处理措施、转归等方面

没有差异, 见表 4。

2.3 不同性别 TEAEs 发生情况

不同性别受试者中 TEAEs 发生率的差异无统计学意义, 见表 5。

2.4 不同年龄段 TEAEs 发生情况

随着年龄升高, 发生 TEAE 的受试者比例无明显变化, 但发生与试验药物具有相关性 TEAE 的受试者比例逐渐增加, 见表 6。

3 讨论

有效性是药品上市的基础, 安全性是药品上市的前提^[8]。华法林在临床上使用历史长, 总体相对安全, 除凝血功能异常外, 也有肝损伤^[10]、Stevens-Johnson 综合征^[9]等不良反应的报道。总体评价 4 项生物等效性试验中试验药物华法林均表现出较好的安全性, 同时未见生命体征、心电图异常改变, 也符合该药药理作用机制。

表 2 与试验药物相关的 TEAEs 构成汇总

Table 2 Summary of drug-related TEAEs composition

名称	n/例	构成比/%	名称	n/例	构成比/%
纤维蛋白原升高	9	31.03	活化部分凝血活酶时间延长	1	3.45
丙氨酸氨基转移酶升高	3	10.34	血小板计数升高	1	3.45
谷氨酰转肽酶升高	3	10.34	皮肤瘙痒	1	3.45
肌酸激酶升高	2	6.90	斑丘疹	1	3.45
纤维蛋白原降低	2	6.90	胆红素升高	1	3.45
乳酸脱氢酶升高	2	6.90	鼻出血	1	3.45
天冬氨酸氨基转移酶升高	1	3.45	牙龈出血	1	3.45

表 3 与试验药物不相关的 TEAEs 构成汇总

Table 3 Summary of drug unrelated TEAEs composition

名称	n/例	构成比/%	名称	n/例	构成比/%
上呼吸道感染	20	22.99	咳嗽	2	2.30
血尿酸升高	16	18.39	带状疱疹	1	1.15
白细胞计数降低	14	16.09	关节痛	1	1.15
中性粒细胞计数降低	6	6.90	发热	1	1.15
甘油三酯升高	5	5.75	脉搏增快	1	1.15
创伤	4	4.60	颞颌关节疼痛	1	1.15
血压升高	2	2.30	腹泻	1	1.15
恶心	2	2.30	中性粒细胞计数升高	1	1.15
呕吐	2	2.30	天冬氨酸氨基转移酶升高	1	1.15
口腔溃疡	2	2.30	斑疹	1	1.15
贫血	2	2.30	纤维蛋白原升高	1	1.15

表 4 不同给药方式 TEAEs 对比

Table 4 Comparison on TEAEs with different medication methods

组别	给药次数	TEAE/例	相关 TEAE/例	TEAE 种类/例				
				肝功能异常	凝血	血小板	皮肤相关疾病	肌酸激酶
空腹	335	56	15	2	10	1	1	1
餐后	336	60	14	8	4	0	1	1

表 5 TEAEs 与性别的相关性

Table 5 Correlation of TEAE with gender

性别	n/例	发生 TEAE 受试者例数(占比/%)	发生相关性 TEAE 受试者例数(占比/%)
男	134	50 (37.3)	17 (12.7)
女	54	21 (38.9)	5 (9.3)

表 6 不同年龄段 TEAEs 发生分布

Table 6 Distribution of TEAEs in different age groups

年龄/岁	n/例	发生 TEAE 受试者例数(占比/%)	发生相关性 TEAE 受试者例数(占比/%)
18~24	27	12 (44.4)	2 (7.4)
24~30	54	18 (33.3)	6 (11.1)
30~40	64	27 (42.2)	8 (12.5)
≥40	43	15 (34.9)	7 (16.3)

TEAEs 与试验药物相关的判断基于:不良事件发生与试验用药的时间逻辑关系、距离首次用药和末次用药的时间间隔;减量或停药后,症状/体征恢复情况,再次用药后,症状/体征是否复现;类似情况已有报道情况;以及其他可解释的原因。基于这些因素,对于试验过程中出现的同一种 TEAE 与试验药物的相关性判断可能存在不一致情况,如纤维蛋白原升高、天冬氨酸氨基转移酶升高等,如在某受试者某周期给药前出现,且存在其他可解释的原因,将很可能判断为与试验药物无关;而如果同样的 TEAE 在给药后较短的时间内出现,结合试验药物的药理机制以及已有的安全性报告,将很可能判断为与试验药物有关。

肝功能指标异常共发生 10 例次,涉及丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶、 γ 谷氨酰转肽酶、乳酸脱氢酶、胆红素等指标升高,值得引起关注的是餐后给药组肝功能异常发生次数较空腹组更多,考虑到给药当日高脂肪饮食可能的潜在影响,检索国内多篇相关文献示高脂肪饮食对于转氨酶检测没有影响^[11-12],本研究中受试者给药后转氨酶升高幅

度均超过正常上限 1.25 倍,难以用饮食因素解释。进一步分析其中 4 例次于受试者第 2、3、4 周期再次入院时检查发现,而前 1 周期出院当日检查均无异常。因华法林半衰期较长、两周期间清洗期达 20 余天,对于受试者而言从其主观、客观角度均增加了肝功能异常发生的可能。首先,由于很多研究机构未使用统一的受试者筛选系统^[13],无法完全规避受试者重复参加试验,基于经济利益考虑^[14]受试者在故意隐瞒试验史情况下可于清洗期参加另一项临床试验,现有筛选系统无法将其识别出来。因此有必要开发全国统一的受试者筛选系统或将现有不同筛选系统进行资源整合、数据互联互通,以防受试者利用多周期试验的清洗期重复参加使用其他筛选系统的试验。另外,院外期间受试者如因身体不适擅自服药、不良饮食生活习惯等也可导致部分实验室检查异常。故应加强受试者出院前宣教,告知院外期间注意事项、试验机构的联系人、联系方式等,在受试者遇到问题时可及时沟通、指导处理方法。通过上述措施减少非试验药物造成的实验室检查异常。

根据不同年龄段对所有受试者进行分组后,发现随着年龄增加发生 TEAE 受试者比例并无增加,但发生与试验药物相关 TEAE 受试者比例逐渐升高;因各年龄段试验药物相关的 TEAE 例数均较少,未进行与年龄相关性的统计评价。4 项试验所发生 TEAE 大部分为实验室检查及体征的异常,仅皮肤瘙痒为主观感觉,可除外某些职业受试者故意隐瞒不适,更客观反映试验药物安全性。相关研究均显示药物性肝损伤的发生率随着年龄增长而升高^[15-16],本研究中涉及所有转氨酶升高均未达到正常值 2 倍,虽不能诊断肝损伤,但类似现象启示对于涉及食物影响的生物等效性试验,要考虑不同给药方式及受试者间年龄差异对 TEAE 发生的影响,在符合方案纳入标准前提下纳入的两组受试者年龄相差不能过大,且最好招募各个年龄段受试者以更全面收集不良事件。

本研究存在不足之处:首先纳入研究的试验均

为单次给药, 仅评估健康受试者单次给药后的安全性, 与临床上使用对象不同、给药频次不同, 难以全面反映有基础疾病的患者在连续多次给药情况下的安全性。其次, 因样本量较少, 本研究餐后组肝功能异常虽多于空腹组, 但所有 8 项 TEAE 共涉及 5 位受试者, 其中 1 人 3 项, 1 人 2 项, 3 人各 1 项, 不除外个体差异的影响; 另外某些不良反应可因样本量较少而在生物等效性试验中难以观察到。因此有必要在真实世界中通过对已经通过一致性评价的仿制药物继续评价安全性。近年随着国家组织药品集中采购和使用试点^[17], 仿制药使用数量迅速增长, 2021 年国家医保局对第 1 批集采的 14 个中选药品, 开展了临床疗效和安全性真实世界研究^[18], 结果表明在临床真实诊疗环境中, 中选仿制药与原研药在临床疗效和使用上等效, 不良反应无统计学差异。对于华法林钠也可开展该类研究。

综上所述, 本研究表明所纳入 3 款国产华法林钠片对比参比制剂发生的 TEAE 没有明显差异, 安全性和耐受性均良好; 但年龄是影响不良事件发生类型和发生率的潜在因素。未来在以体内生物等效性试验进行仿制药一致性评价时应注意关注受试制剂与参比制剂之间安全性是否存在差异, 从而更全面地评价仿制药的质量, 以遴选出真正价廉质优的产品造福广大患者。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李伟, 孟昭慧, 刘兆华. 心房颤动患者卒中防治药物利伐沙班与华法林的药物经济学分析 [J]. 中国药物经济学, 2021, 16(2): 28-31.
- [2] 万征, 李永乐. 华法林在新型口服抗凝药物时代的地位 [J]. 协和医学杂志, 2018, 9(2): 108-111.
- [3] 刘冬, 韩鸿臻, 王骏. 窄治疗指数药物人体生物等效性研究的几点考虑 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(10): 2262-2267.
- [4] 国家药品监督管理局. 《窄治疗指数药物生物等效性研究技术指导原则》[S]. 2020.
- [5] 陈小平, 胡朝英, 张兰. 常见窄治疗指数药物及其生物等效性评价现状 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2019, 24(10): 1188-1193.
- [6] 陈震, 杨建红, 张彦彦, 等. 影响我国化学药品仿制药质量的潜在因素分析 [J]. 中国新药杂志, 2017, 26(12): 1345-1350.
- [7] 广东省药学会. 药物临床试验安全评价·广东共识 (2020 年版) [J]. 今日药学, 2020, 30(11): 731-740.
- [8] 张正付, 李萌, 燕娟, 等. 药物临床试验中不良事件的案例收集与评判 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(23): 3957-3961.
- [9] 金承焕, 汪佳兵, 王石健. 华法林致药物性肝损伤 1 例及文献复习 [J]. 肝脏, 2021, 26(9): 1054-1056.
- [10] Xiong H, Liu T, Xiao J P, et al. Warfarin-induced Stevens-Johnson syndrome with severe liver injury [J]. *J Int Med Res*, 2021, 49(7): 196.
- [11] 潘学万. 脂肪和蛋白类饮食对临床肝功能检测结果的影响 [J]. 中国继续医学教育, 2019, 11(26): 56-58.
- [12] 刘淑芹. 饮食对肝功能检测结果的影响 [J]. 社区医学杂志, 2014, 12(18): 85-86.
- [13] 毕国放, 郑俊杰, 胡锦超, 等. I 期临床试验的信息化管理系统应用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(3): 300-302.
- [14] 孙莹, 蔡秋晗, 李瑞本, 等. 生物等效性试验受试者招募影响因素的定性访谈研究 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(2): 387-390.
- [15] 赵娇. 170 例药物性肝损伤患者临床特征与病理分析 [D]. 大连: 大连医科大学, 2021.
- [16] 于乐成, 茅益民, 陈成伟. 药物性肝损伤诊治指南 [J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(11): 1752-1769.
- [17] 中华人民共和国中央人民政府. 国务院办公厅关于印发国家组织药品集中采购和使用试点方案的通知 [EB/OL]. (2019-01-01) [2022-03-27]. http://www.gov.cn/gongbaocontent/2019/content_5361793.htm.
- [18] 国家医疗保障局. 国家医保局召开集采中选药品疗效和安全性真实世界研究成果发布会 [EB/OL]. (2021-06-11) [2022-03-27]. http://www.nhsa.gov.cn/art/2021/6/11/_Art_14_5260.html.

[责任编辑 金玉洁]