

临床药理 实验方法学

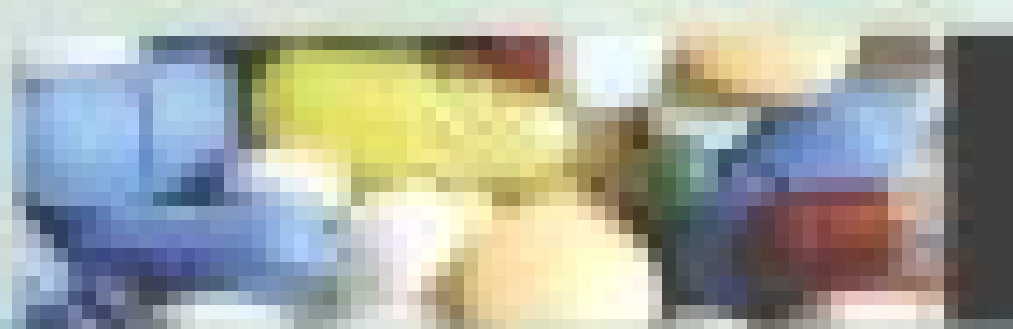
主编 郭瑞臣



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

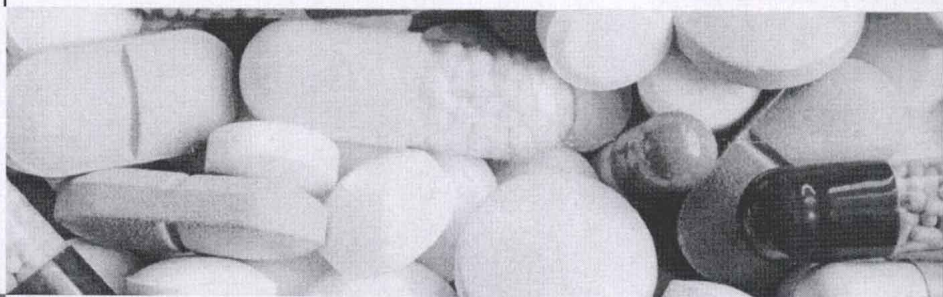
临床药理 实验方法学

主编 廖建波



中国医药出版社
CHINA MEDICINE & PHARMACEUTICAL PUBLISHING HOUSE

临床药理 实验方法学



顾 问 高海青 张岫美

主 编 郭瑞臣

副主编 王本杰 李 军 胡 欣
郭 琴 王 峰 张相林

编 委 (以姓氏笔画为序)

卜凡龙	王 峰	王本杰	王芙蓉	刘 娜
刘晓燕	江 波	孙德清	李 军	李 荣
			张相林	陈克广
			赵恒利	胡 欣
			郭瑞臣	温 清

滕艳妮 魏春敏 魏传梅

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

临床药理实验方法学/郭瑞臣主编. —北京:人民
卫生出版社, 2012. 5

ISBN 978-7-117-15349-2

I. ①临… II. ①郭… III. ①临床医学: 药理
学-实验方法 IV. ①R965. 2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 000153 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医 师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

临床药理实验方法学

主 编: 郭瑞臣

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 34 插页: 2

字 数: 847 千字

版 次: 2012 年 5 月第 1 版 2012 年 5 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-15349-2/R·15350

定 价: 76.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



主编简介



郭瑞臣 教授 主任

山东大学齐鲁医院临床药理研究所、药物监测中心主任,主任药师,教授,临床药理学博士研究生导师。1982年1月毕业于山东医学院药学系,获学士学位。1991年5月作为国家教委公派访问学者赴瑞士伯尔尼大学临床药理研究所进修。兼任山东省计划生育学术委员会委员,山东省医疗事故鉴定委员会专家,新药审评专家;中国临床药理学与治疗学杂志、中国临床药学杂志、中国医院药学杂志、药学服务与研究杂志、药品评价杂志、山东大学学报医学版编委;中华医学会临床药学分会常务理事,中国药理学会/治疗药物检测研究分会副主任委员、药物基因组学分会常务理事,中国药学会医院药专业委员会委员,山东省药学会常务理事/医院药专业委员会主任委员,山东分析测试协会常务理事/质谱专业委员会主任委员,山东药理学会药理与毒理检验专业委员会副主任委员。先后获山东省科技进步二等奖1项,三等奖2项,完成不同类别新药I期临床试验200余项,在国内外杂志发表论文150余篇,培养硕士、博士研究生60余人。主要从事临床药理学研究,研究方向为药物临床试验、药物代谢、药代动力学和个体化药物治疗。



序 言

由于临床药理学研究的特殊性,从业人员多为从事基础药理学教学或科研的专业技术人员,或以临床行医为主、临床实验研究为辅的临床医生,以往相关著述或侧重于新药临床试验的一般原则,或侧重于基础药理学实验,二者间缺乏有机组合,其实用性、参考性、指导性存在一定局限性。目前国内尚无以临床药理实验(试验)方法学为题材的专业书籍。

临床药理实验(试验)方法学内容包括临床药理学研究与实践所涉及的常规设备、精密仪器、管理规范、试验方案设计、数据处理、结果分析、报告书写,与临床药理学研究相关的治疗药物监测、药物多态代谢(离体/在体微粒体酶代谢机制、过程、动力学研究)、天然药物临床药理学、药代动力学;药品注册、临床试验的监督与管理等内容,涉及药物临床研究和开发、临床安全性和有效性评价的各个环节。拟分为常规设备篇、精密仪器篇、管理规范篇、试验示范篇、临床试验篇、药品审评篇、天然药物篇及相关附录。各篇根据内容分为若干章。

临床药理实验方法学突出内容的实用性和指导性,方法的规范性和可重复性。适用于从事临床药理学,包括药代动力学研究、生物等效性评价、体内药物分析、新药安全性和有效性评价、新药临床试验方案设计、药品注册管理、CRO 组织中的各类人员、新药开发的各级技术人员,医药院校本科生、研究生,药物生产企业生产、研发人员,以及从事药品监督管理的行政人员参考、借鉴,为不可多得的必备工具书、案头书。

参编人员来自临床药理学研究的各分支领域及各相关科研、临床和管理部门,为多年从事临床药理学研究和实践的资深学者和专家,在国内有一定知名度和影响力,有较高学识造诣,有丰富实践经验,可确保本书的权威性。

临床药理学研究内容日益增加,研究方法和技术发展迅速,相关试验更加规范,但鉴于作者水平所限,难免有遗漏、偏颇之处,恳请读者批评指正,以便再版完善。

郭瑞臣

2011 年 10 月于济南



目 录

第一篇 I 期临床试验篇

第一章 I 期实验室管理	2
第一节 I 期临床试验人员构成、资质要求及职责	2
第二节 I 期临床实验室仪器设备	7
第三节 I 期临床实验室基础设施与生物安全管理	11
第四节 I 期临床实验室试剂与药品管理	14
第五节 I 期临床实验室仪器设备管理	17
第六节 生物样本采集与储存	18
第七节 I 期临床试验文件管理与资料保存	20
第八节 实验室质量控制	27
第二章 I 期病房管理	31
第一节 基础设施和人员设置	31
第二节 药品配备	33
第三节 管理制度	33
第四节 专用设备设施	37
第五节 I 期病房管理规范	38
第三章 人体耐受性试验	41
第一节 概述	41
第二节 志愿者选择	42
第三节 单次、多次给药的耐受性试验	43

第四节 观察指标	44
第五节 数据统计分析及报告	46
第四章 药代动力学与生物等效性试验	48
第一节 概述	48
第二节 健康志愿者药代动力学研究	51
第三节 特殊人群的药代动力学研究	59
第四节 生物等效性试验	75
第五章 群体药代动力学	81
第一节 概述	81
第二节 群体药代动力学分析方法	82
第三节 研究方案设计与实施	84
第四节 数据处理	87
第六章 中药药代动力学	94
第一节 概述	94
第二节 中药药代动力学研究内容	96
第三节 中药药代动力学研究方法	98
第四节 中药 PK-PD 模型研究	101
第五节 中药代谢组学研究	102
 第二篇 II、III、IV期临床试验篇	
第七章 II、III、IV期临床试验管理规范	108
第一节 受试者权益的安全性保障	108
第二节 临床试验管理	112
第三节 病例报告表	117
第四节 多中心试验	118
第八章 II和III期临床试验	120
第一节 研究者手册的编写	120
第二节 II/III期临床样本量的确定	122
第三节 病例选择与淘汰	122
第四节 临床疗效及安全性评价	124
第九章 IV期(新药上市后)临床试验	127
第一节 概述	127
第二节 IV期临床试验设计	131
第三节 IV期临床试验内容	134

第三篇 管理规范篇

第十章 临床试验的伦理管理	138
第一节 概述	138
第二节 设计原则与对照组选择	139
第三节 知情同意	141
第四节 安慰剂的使用	143
第五节 数据管理	145
第六节 科学与伦理	149
第七节 特殊受试人群的伦理要求	150
第八节 特殊研究药物的伦理要求	154
第十一章 试验过程的质量控制	160
第一节 试验方案	161
第二节 受试者招募	163
第三节 组织实施	165
第四节 监查与稽查	170
第五节 数据录入	172
第六节 研究报告	173
第十二章 临床试验的技术审评要求	182
第一节 疗效探索性研究(Ⅱ期临床试验)	182
第二节 疗效确证性研究	184
第三节 耐受性试验的技术审评要求	188
第四节 药代动力学试验的技术审评要求	190
第五节 人体生物等效性试验的技术审评要求	193
第十三章 生物样本测定的质量控制	197
第一节 样品稳定性	197
第二节 分析方法确证	199
第三节 方法学质控	202
第四节 生物样本测定常见问题	203
第十四章 临床试验数据的统计管理	207
第一节 概述	207
第二节 统计学指导原则	209
第三节 定性资料的统计分析	212
第四节 定量资料的统计分析	216
第五节 多中心试验数据的分析	220

第十五章	临床试验与合同研究组织	221
第一节	概述	221
第二节	CRO 的市场运作	222
第三节	CRO 的专业化优势	223
第四节	CRO 软件及硬件条件	224
第五节	CRO 的远景	225

第四篇 实验仪器篇

第十六章	高效液相色谱技术	228
第一节	主要结构	229
第二节	固定相	234
第三节	流动相	239
第四节	常见问题及故障处理	243
第五节	高效液相色谱法的应用	253
第十七章	液相色谱-质谱联用技术	258
第一节	液相色谱-质谱联用技术基本理论	258
第二节	质谱仪的基本结构	261
第三节	液质联用技术分析条件的选择和优化	265
第四节	液质联用技术常见问题及故障处理	267
第五节	液质联用技术的应用	268
第十八章	高效毛细管电泳技术	272
第一节	基本原理	272
第二节	毛细管电泳仪的结构	276
第三节	常见问题及故障处理	278
第四节	高效毛细管电泳应用	280
第十九章	气相色谱技术	284
第一节	气相色谱法原理	284
第二节	气相色谱仪的基本结构	292
第三节	气相色谱法的定性定量分析	303
第四节	常见问题及故障处理	307
第五节	气相色谱法的应用	308
第二十章	气相色谱-质谱串联技术	312
第一节	GC-MS 工作原理	312
第二节	气相色谱-质谱联用仪器结构	314
第三节	气相色谱-质谱法的应用	316

第二十一章 原子吸收技术	319
第一节 基本原理	319
第二节 原子吸收分光光度计	321
第三节 定量分析方法	325
第四节 原子吸收分光光度法的干扰及其消除方法	326
第五节 常见问题及故障处理	329
第六节 实验技术和应用	332
第二十二章 免疫测定技术	335
第一节 荧光免疫分析	337
第二节 放射免疫分析	343
第三节 酶免疫分析	350
第四节 其他免疫分析	354
第五篇 实验技术篇	
第二十三章 生物样品处理技术	362
第一节 生物样品的种类、制备及储存	362
第二节 生物样品一般处理方法	366
第三节 生物样品中待测组分的提取分离及浓缩	372
第四节 在线生物样品处理技术	376
第二十四章 药物蛋白结合测定技术	382
第一节 平衡透析法	383
第二节 超滤法	385
第三节 超速离心法	386
第四节 色谱法	388
第五节 微透析法	391
第六节 其他方法	392
第二十五章 分子生物学技术	394
第一节 核酸分离与纯化	394
第二节 DNA 限制性内切酶	397
第三节 核酸探针标记	399
第四节 核酸分子杂交	402
第五节 蛋白质的分离纯化	404
第六节 聚合酶链反应	406
第七节 DNA 序列测定	409
第八节 基因表达与调控	412
第九节 基因克隆	415

第二十六章 生物活性物质测定技术	419
第一节 花生四烯酸代谢物	419
第二节 肿瘤坏死因子	423
第三节 环核苷酸	425
第四节 丙二醛	428
第五节 氨基酸	429
第六节 内啡肽	431
第七节 单胺类神经递质	433
第八节 褪黑素	435
第九节 组胺	437

第六篇 药物代谢研究方法

第二十七章 药物代谢的体外研究方法	442
第一节 器官来源工具	443
第二节 主要培养体系和细胞系	445
第三节 亚细胞成分	447
第四节 分离酶	448
第二十八章 药物代谢酶测定方法	449
第一节 CYP450s 氧化还原酶	450
第二节 其他氧化酶	456
第三节 脱氢酶	457
第四节 水解酶	458
第五节 转移酶	458
第二十九章 药物代谢特征参数测定技术	462
第一节 酶促动力学参数测定	462
第二节 其他药物代谢特征参数测定	464
第三节 酶促代谢影响因素试验	467
第四节 体内外研究的相关性	467
第三十章 药物代谢酶、转运体、受体基因多态性	469
第一节 经典方法	471
第二节 现代研究方法	479
第三节 研究示例	495
附录	498
第一节 耐受性试验	498
第二节 药代动力学试验	499

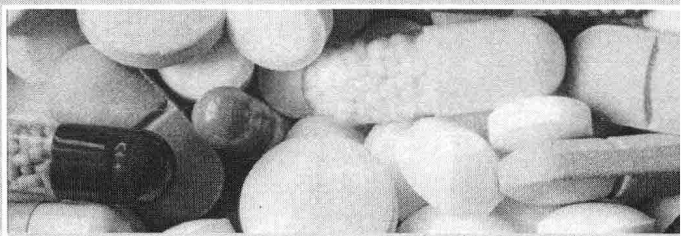
第三节	生物等效性试验	509
第四节	缓控释制剂生物等效性试验	516
第五节	复方制剂药代动力学试验	519
第六节	尿药法在生物等效性试验中的应用	525
参考文献		529
索引		534

第一篇



I 期临床试验篇

第一章



I 期实验室管理

I 期临床试验研究主要包括新药人体耐受性、药代动力学和生物等效性临床试验。人体耐受性和药理学试验,多数情形为首次于人体进行的试验,风险更大。因此对 I 期临床试验研究室的硬件条件有其特殊要求,以充分保障受试者的安全。I 期临床试验研究室主要由两部分组成,一为 I 期临床实验室,二为 I 期临床试验病房,本章主要论述 I 期临床实验室的管理。

第一节 I 期临床试验人员构成、资质要求及职责

I 期临床试验研究室一般由临床药理学、临床医学、护士、药学技术人员组成,其负责人可由临床药理学(或药学)专业人员或临床医学专业人员担任,而临床药理学或药学专业人员为最理想模式。

一、研究团队的人员组成及资质要求

研究者是药物临床试验的具体施行者,在机构所辖的专业科室中执行临床试验职责。研究者一方面要完成临床试验的任务,另一方面还要负责受试者的医疗和安全,在试验中负有重要责任,是临床试验能否成功的关键要素。一般情况下临床试验的研究者是指一支专业的技术团队,由医师、护士、药师、实验室技术人员等组成,共同协作完成临床试验任务。

临床试验的研究团队又称为专业研究组,包括项目负责人、主要研究者(principal investigator)、研究者(investigator)及研究协助人员(sub-investigator)。根据临床试验涉及的领域和方案设计的不同,整个研究团队的组成和分工各不相同。

(一) 常见的研究团队组成

1. 专业组负责人 一般是专业科室负责人,负责本专业药物临床试验质量保证体系和本专业承担的临床试验任务的组织、管理与协调工作。

2. 主要研究者 某一药物临床试验的协调和实施的研究总负责人,其他人员在其指导和协调之下开展工作。在多中心临床试验中,总负责人也被称为主要研究者或研究组长,其他参加单位的研究负责人则称为合作研究者。通常由专业负责人担任,也可由本专业学术造诣深厚的资深专家担任,负责临床试验具体指导和协调工作。

3. 研究者 临床试验中筛选、纳入受试者,并对其具体实施医疗、观察行为,原始档案

建立、归纳、整理的人员。

4. 研究协助人员 协助研究者开展临床试验的其他人员。包括研究护士、研究药师、医技人员和研究协调员 (coordinator) 等。

(二) 研究人员的资质要求

由于药物临床试验对象 (健康人或患者) 的特殊性, 为保证受试者的健康与安全, 研究者必须包括具有执业资格的医师。新药 I 期临床试验、人体药动学试验及生物等效性试验, 药师和临床药理专业人员可以作为项目的研究负责人, 但受试者安全健康的责任仍应由临床医师负责。

1. 试验专业 (项目) 负责人的资质要求

(1) 试验专业 (项目) 负责人在法定医疗机构中具有相应专业科室的行政职务、高级专业技术职称和行医资格; I 期临床实验室负责人由具有高级专业技术职称的临床药理学专业人员或药师担任。

(2) 在本专业有较高的学术造诣, 经过临床试验技术和 GCP 培训。

(3) 对药物临床试验具有丰富的经验并具有指导协调能力。

(4) 熟悉并遵守 GCP, 了解并遵守相关法律、法规及道德规范。

(5) 有权支配和调度本专业人员与设备, 并具有医院部门间的协调能力。

2. 主要研究者的资质要求

(1) 在医疗机构中具有相应专业的高级技术职称和行医资格; 人体药动学研究和生物等效性试验可由具有高级技术职称的临床药理学人员或药师担任。

(2) 经过临床试验技术和 GCP 培训, 曾参加临床试验, 具有丰富的经验, 有能力指导合作研究者完成临床试验。如主要研究者具备基本条件, 但缺乏足够经验, 在得到本单位有经验的 researcher 学术指导可完成试验任务亦可。

(3) 具有丰富的临床试验所要求的专业知识和临床经验, 足以处理受试者在试验过程中可能发生的任何医疗问题。

(4) 熟悉研究者手册、临床试验方案及新药的有关资料和文献。

(5) 遵守 GCP, 了解申办者及研究机构的标准操作规程 (SOP), 同时遵守我国的有关法律、法规及道德规范, 如《药品管理法》、《药品注册管理办法》、《赫尔辛基宣言》等。

(6) 拥有可供支配的人、物和仪器设备, 可保证随时按需行使权力。此权力应获得临床试验机构法人的认可与支持。

3. 研究者的资质要求

(1) 在医疗机构中具有相应专业技术职称和行医资格。

(2) 具有试验方案所要求的专业知识和经验, 接受过临床试验技术和 GCP 培训。

(3) 对药物临床试验具有丰富经验或能得到有经验的 research 者的指导。

(4) 熟悉研究者手册、临床试验方案及新药的有关资料和文献。

(5) 遵从 GCP, 了解申办者及研究机构的标准操作规程 (SOP), 同时遵守我国的有关法律、法规, 如《药品管理法》、《药品注册管理办法》等, 以及道德规范。

(6) 具备在临床试验方案规定的时间内召集足够数量的受试者进入试验的能力。

(7) 具备熟练操作临床试验所需设备的能力。

(8) 如为 I 期临床试验, 还应具备临床试验方案设计, 以及生物样本处理、分析、方法学考察、药动学参数分析与评价的能力。

(9) 有充足的时间去完成与试验有关的工作。

4. 研究护士的资质要求

- (1) 具有在医疗机构中的专业技术职称。
- (2) 熟悉临床试验方案的相关内容。
- (3) 接受过 GCP 等相关培训。
- (4) 具有相关的操作技能,具备熟练操作临床试验所需设备的能力。

5. 研究药师和医技人员等其他人员的资质要求

- (1) 具有相应的技术资质和操作能力(如相关分析、分离仪器的操作,生物样本的处理、分析、方法学考察,药动学参数计算、分析、评价等)。
- (2) 经过 GCP 的相关培训,熟悉医疗机构药物临床试验管理制度。
- (3) 熟悉临床试验方案的相关内容。
- (4) 熟悉试验药物的理化性质、体内处置过程、临床意义等。

二、研究者的职责与分工

(一) 试验专业科室负责人的职责

1. 组织、领导、协调本专业药物的各期临床试验,包括各项管理制度、试验规范、标准操作规程及急救预案的制定和修订,负责建立本专业药物各期临床试验质量保证体系。
2. 负责本专业承担的临床试验任务的组织、管理和协调工作
 - (1) 确定本专业药物临床试验的主要研究者。
 - (2) 指定专人严格按 GCP 要求及有关制度管理试验用药,并定期检查。
 - (3) 指定专业质控人员(quality control, QC)严格按 GCP 要求及有关制度对临床试验全过程进行质量检查,发现问题及时处理。
 - (4) 指定专人严格按 GCP 要求及有关制度管理本专业药物临床试验的各种文件、资料、档案,并定期检查。

(二) 主要研究者的职责

主要研究者是实施和完成临床试验的总负责人,必须保证有足够的工作时间履行职责,在专业负责人的领导下负责临床试验全过程的规范性、科学性,保障受试者的安全与权益,负责指导研究者正确实施临床试验方案。在试验各阶段及时向专业负责人汇报试验进展情况。

1. 试验前主要研究者的职责

- (1) 负责试验项目的洽谈,审核申办者资质、临床批件等相关文件,分析、评价试验的意义,权衡按 GCP 要求完成试验的条件和能力。
- (2) 获得所在医疗机构和科室的同意和支持,以保证有充分的时间和人力、物力在方案规定的期限内完成试验。
- (3) 核算试验费用,参与签订临床试验协议。
- (4) 充分了解试验方案及药物特点,选择合格的临床试验研究人员,明确分工和职责。
- (5) 负责组织试验方案、CRF 表、知情同意书及相关 SOP 的撰写。
- (6) 负责向伦理委员会提交伦理审查文件,包括研究人员资质,试验条件,实验室认证文件和临床试验所要求的实验室检查项目正常值、试验方案、知情同意书(样稿)、受试者招募方式。