

国际人用药品注册技术协调会 ICH 协调指导原则

毒代动力学指导原则说明：毒性研究中的全身暴露量评价
聚焦于微量采样

S3A 问答

终版

2017年11月16日采纳

根据 ICH 进程，本指导原则由相应的 ICH 专家工作组制定，并已向监管机构征求意见。在进程的第 4 阶段，建议 ICH 区域的监管机构采纳最终草案。

S3A 问答 文件历史

编码	历史	日期
S3A 问答	管理委员会批准进入第二阶段，并发布以公开征询意见	2016年5月19日
S3A 问答	经 ICH 大会管理成员采纳进入第 4 阶段（文件日期：10 月 12 日）	2017年11月16日

法律声明： 本文件受版权保护，在始终承认 ICH 版权的前提下，基于公共许可可以使用、复制、在其他作品中引用、改编、修改、翻译或传播。如对本文件进行改编、修改或翻译，必须采取合理措施来清晰地标明、界定或以其他方式标记对本文件做了改变。应避免对本文件的改编、修改或翻译由 ICH 认可或发起的任何误导。

本文件根据现有内容提供，不作任何保证。ICH 或本文作者在任何情况下均不对使用本文件产生的索赔、损失或其他责任负责。

上述许可不适用于由第三方提供的内容。因此，对第三方拥有版权的文件需获得版权所有人的复制许可。

毒代动力学指导原则说明：毒性研究中的全身暴露量评价 聚焦于微量采样

ICH 三方协调指导原则

目录

前言	1
1.前言-范围	1
2.微量采样法应用的基本原则	2
3.对安全性评价的影响	4
4.与生物分析方法有关的问题	5
5.附录：与 ICH S3A 指导原则相应章节关联的问答	7

毒代动力学指导原则说明：毒性研究中的全身暴露量评价

聚焦于微量采样

前言

S3A 指导原则于 1994 年成功实施。可是近年来，随着分析方法灵敏度提高，微量采样技术得以广泛应用于毒代动力学（TK）评价。这份问答文件侧重于在将微量采样法应用于毒代动力学研究之前应考虑的要害，肯定其在主研究动物毒代动力学评价中的益处和一些局限性，并且通过减少或消除毒代动力学卫星组动物的需求，对 3R 获益（替代、减少和优化）做出全面重要的贡献。

1.前言-范围

1.1（问题 1）微量采样的定义是什么？

回答 1: 在本文件中，微量采样是采集极少量血液（通常 $\leq 50\mu\text{L}$ ）的一种方法，通常用于测定药物和/或其代谢物的浓度以及后续计算合适的毒代动力学参数。微量采样技术适用的基质包括血液及其来源的血浆或血清，可以使用液体或干燥形式进行运输、储存和后续分析。用于 TK 研究的微量采样可应用于啮齿类和非啮齿类动物。其他非血液来源基质的微量采样法不包括在这份问答文件的范围内。

1.2（问题 2）微量采样法有哪些获益/优势？

回答 2: 将血液采集量最小化可减少动物疼痛和痛苦，同时提

高啮齿类和非啮齿动物的动物福利（优化）。微量采样法还可以在主要研究动物的 TK 评价中消除使用 TK 卫星组，或减少啮齿类动物研究中 TK 卫星组所需的动物数（减少）。这种获益对于小鼠而言尤其明显，因为采用传统采样量的毒代动力学研究中卫星组通常需要大量动物。微量采样的主要科学优势在于，可在相同动物中直接评价安全性数据与药物暴露量间的关系。

2.微量采样法应用的基本原则

2.1（问题 3）我们可以在哪些类型药物研究和哪些类型的安全性研究中采用微量采样？

回答 3: 总体上讲，微量采样适用于绝大多数药物包括生物制品的研究。然而，对于所有类型的分析物，应按照具体问题具体分析的原则来考虑测定方法的灵敏度是否适用于现有的小体积样本。

微量采样可应用在所有类型的毒理学试验中，例如单次给药或重复给药毒理学试验以及其他毒理学试验（如致癌性、幼龄动物和生殖试验）。当使用微量采样法时，如 S3A 指导原则中提到的，从有代表性的亚组中采样是可以接受的。已有发表案例显示，当从成年动物中抽取少量血液时，对关键兽医临床病理学或病理学参数并无影响。当药物浓度较低并且大多数或全部样本的药物浓度低于分析方法的定量下限（BLQ）时（如局部或吸入给药后的暴露量），不应使用微量采样。然而，当微量采样与传统采样量的生物分析方法的最低定量下限（LLOQ）相同时，即使大多数或所有样本低于生物分析方法的定量下限，仍可以采用微量采样。

2.2 (问题 4) 当将微量采样应用于毒代动力学研究时应考虑的要
点有哪些?

回答 4: 正如动力学采样的其他方法,为了适当地采用微量采样技术,应开发并验证一种生物分析方法(或按照各地区的法规指导原则/指南,经验证可用于 GLP 研究)以确保分析结果的可靠性。应对分析特征进行仔细评价,例如 LLOQ、准确度、精密度、保存前稀释基质的影响以及生物基质中的分析物在整个采样期内的稳定性、储存和处理条件,以便确立微量采样方法。当在一些研究中已经使用传统方法,拟定在其他研究中采用微量采样法时,可能需要比较微量采样与传统采样方法在特定基质中暴露量的测定。如果 TK 样本呈现状态有本质不同(如来自微量采样的干燥样本与来自传统采样的液体样本),这种比较就显得尤为重要。若评估了适当的浓度范围,并比较了两种方法获得的参数,则可在一项独立的药代动力学(PK)研究中测定 AUC 和/或 C_{max} 来确定两种方法的可比性。如果需要,该 PK 研究应在使用微量采样法的确定性研究之前完成。这项独立的对比性药代动力学研究也可以省略,应具体问题具体分析,但是必须有科学的理由,如采用相似测定条件对取自同一部位的血液、血浆或血清进行检测。

在这种对比过程中,可以考虑对少数几个动物在一些时间点进行多次的微量采样并对样本中的分析物浓度进行测定,以检查采样的变异性。理想情况下,毒代动力学研究中以及临床研究中应一直使用相同基质来对比暴露量。当在不同研究中使用不同基质

时，应考虑到基质间诸如血液学参数、血浆蛋白结合率和药物血液/血浆（或血清）比值等不同因素和药物浓度的关系，以便根据不同基质的测定值合理评价系统暴露量。

2.3（问题 5）微量采样采用哪些血液收集器？

回答 5: 血液可采用毛细管或任何适当的小型采集设备，从尾静脉、隐静脉中采集。采集的血液及其来源的血浆或血清可在液体或干燥形式下测定药物浓度。某些情况下，在储存、运输和后续分析之前，可使用适当的溶剂或空白基质稀释样品。也可以采取干燥样本取样方法，通常将样本直接点在纤维素材料或其他类型的材料上，随后干燥。可以使用卡片/设备上的固定直径的冲压印或全量的斑点来进行提取和分析。微量采样法的进步已经表明其有能力采集精确体积的血液，因此完整的样本不需要额外进行体积测量可直接应用于分析中。另外，也可以考虑经过充分验证的新开发技术。

3.对安全性评价的影响

3.1（问题 6）如何评价血液采集对主研究组毒性数据和动物福利的影响？

回答 6: 当对主研究动物进行血液采集时，重要的是考虑血液采集对动物生理状况的影响。应考虑的主要因素包括：1)在特定时间段内采集的样本体积和数量；2)受试药物的特性（如对红细胞的影响，抗凝作用，或血流动力学特征）；3)试验系统（如种属、年龄、体重、总血容量）；4)采集部位。由于频繁反复采集血液可能

影响生理数据，如血液学参数，因此即使采用微量采样也应合理地制定采样方案。应谨慎记录相关动物数据，如体重、摄食量、血液学参数（如红细胞计数、血红蛋白水平、血细胞压积值、平均红细胞容积、电解质、总蛋白）的变化以及对血液采集部位的任何影响（如组织损伤、炎症）。比较与受试药物组中有相同样本数和样本采集体积的对照组动物，开展这些参数的评价，对在特定研究条件下确定任何可疑作用是否与受试药物或操作有关至关重要。如果既往研究表明频繁采血会加剧受试药物相关的血液学参数的变化，或如果怀疑受试药物的药理学作用会诱导此类影响，则需考虑使用卫星组动物来进行毒代动力学的评价，即使采用的是微量采样技术。或者，如果经过科学论证，也可以考虑联合应用稀疏采样和微量采样。

*毒代动力学研究中的稀疏采样通常涉及在特定时间点从治疗组中的每个动物采集少量血液样本。不同动物分配的采集时间点不同，通常允许一些重复，然后对受试化合物的浓度时间行为做出统计推断。通过适当的研究设计，研究人员可以限制样本的数量和血液采集量，以免影响动物的健康状况，但仍然可实现常规的毒代动力学的研究目的。

4.与生物分析方法有关的问题

4.1（问题 7）在液体或干燥样本的生物分析方法开发和验证中应考虑的要害点？

回答 7: 除了对每个监管区域的生物分析指导原则/指南中规

定的分析方法验证外，当对微量采样取得的样本进行分析时，应考虑下述要点：

对于液体样本采集，应考虑：1) 确保样本均一性，如通过移液管吸取；2) 小体积处理问题（如储存和后续冷冻/解冻过程中的潜在冷冻/干燥的影响，如适用）；3) 因样本体积有限，LLOQ 可能升高；4) 向小容器/毛细管中加入抗凝剂的影响，会导致样本稀释；5) 分析物吸附至收集容器的量可能增加（即表面积与体积的比率增加）；6) 将样本置于适当保存条件下；7) 使用某些方法存在污染的风险和重复取样困难。

对于干燥取样技术（如点样至纤维素或非纤维素的卡片、聚合物基质等），选择具有足够的、可重复的回收率且对检测药物基质干扰最小的方法是很重要的。如果采用干斑冲压的方法，确保分析物的检测不受不同红细胞压积值的影响是很重要的，特别是对小分子药物。红细胞压积对分析检测的影响可以采用具有不同红细胞压积值的血液和加入已知浓度的试验药物来测定。通过评价来自一个斑点的多个样本的分析物水平或通过评价放射性同位素标记来确认斑点的均一性也是非常重要的。如果使用设备采集准确体积的血液，且随后对整个样本进行分析，那么这两个问题都可以最小化。

区域性指导原则/指南中如有描述，则应进行试验样品再分析（ISR）。在进行 ISR 时，应注意确保为 ISR 预先保留足够的样本体积或副本数量（如斑点、容器或吸头）。

5.附录：与 ICH S3A 指导原则相应章节关联的问答

ICH S3A 指导原则 部分	1: 前言	2: 毒代动 力学的 研究目 的和测 定参数	3: 一般 原则	4: 不同毒性 试验中的 毒代动力 学研究- 特殊考虑	5: 注释	6: 参考文 献
1.1 (Q1)	1		3.10		注释 1	
1.2 (Q2)	1		3.5		注释 1	
2.1 (Q3)		2		4		
2.2 (Q4)			3.1 3.10			
2.3 (Q5)			3.10			
3.1 (Q6)			3.3 3.5			
4.1 (Q7)			3.10		注释 1	