

关于中药新药毒理研究用样品的思考与讨论

郑天骄,许文博,刘 焕,万 琴,赵晓霞,黄芳华,韩 炜
(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100076)

[摘要] 毒理研究用样品是药物非临床安全性评价的关键所在,对于保障毒理学试验结果的科学性具有重要意义。与成分明确的化学药不同,中药的组成及成分复杂、剂型多样,因此应根据品种特点对中药新药毒理研究用样品开展针对性研究,规范毒理研究用样品的制备、配制,加强研究过程的质量控制,建立完善的样品档案。本文对中药新药毒理研究用样品的研究内容和需重点关注的问题进行了讨论,以期为研发提供参考。

[关键词] 中药新药毒理研究用样品;受试物;给药制剂;样品档案

[中图分类号] R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2024)04-0412-05

Consideration and discussion on samples for toxicology research of new traditional Chinese medicines

ZHENG Tian-jiao, XU Wen-bo, LIU Huan, WAN Qin, ZHAO Xiao-xia, HUANG Fang-hua, HAN Wei
(Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100076, China)

[Abstract] Samples for toxicology research are important to the non-clinical safety evaluation of drugs, and of great significance for ensuring the scientificity of toxicology tests. Different from chemical drugs with clear ingredients, traditional Chinese medicines have complex compositions and various dosage forms. Therefore, targeted research should be carried out on samples according to the characteristics of the drugs, such as standardized preparation of samples, strict control of the quality for the research process, and complete sample files. In this paper, the key issues of samples for toxicology research of new traditional Chinese medicines were discussed, in order to provide useful references for researchers.

[Key words] samples for toxicology research of new traditional Chinese medicines; test articles; dosing preparation; sample files

中药新药的全生命周期涵盖了研发、注册、上市、上市后等多个阶段,毒理研究是其中的一个重要环节,对于评估药物的安全性具有重要意义,毒理研究用样品则是保障毒理研究结果科学性、可靠性的关键。中药的组成及成分复杂、剂型多样,因此中药新药毒理研究用样品的研究应结合品种特点开展针对性研究。2020年发布的《中药注册分类及申报资料要求》首次对毒理研究用样品的申报资料提出了明确要求^[1],在一定程度上体现了毒理研究用样品

在中药新药研发中的重要地位。本文提出了中药新药毒理研究用样品研究过程中需关注的内容,以期为相关新药研发提供参考。

1 相关概念、范畴

《药物非临床研究质量管理规范》(GLP)适用于为申请药品注册而进行的药物非临床安全性评价研究^[2],该规范中对研究过程涉及术语进行了解释说明,与毒理研究用样品相关的主要包括以下内容:① 受试物/供试品:指通过非临床研究进行安全性评价的物质。② 溶媒:指用以混合、分散或者溶解受试物、对照品,以便将其给予实验系统的媒介物质。③ 实验系统:指用于非临床安全性评价研究的动物、植物、微生物以及器官、组织、细胞、基因等。

[作者简介] 郑天骄,女,助理研究员,审评员,主要从事药品技术审评工作。E-mail:zhengtj@cde.org.cn。

[通讯作者] 韩炜,男,博士,主任药师,高级审评员,主要从事药品技术审评工作。E-mail:hanw@cde.org.cn。



通常毒理研究用样品包括受试物和毒理试验用给药制剂,其中毒理试验用给药制剂是指毒理试验中给予实验系统的具体物质,一般为受试物经适当溶媒配制而成,也存在受试物直接作为给药制剂的情况。在毒理试验过程中,除受试物和给药制剂外,还涉及用于与受试物进行比较的对照品,对照品的研究和管理可参照毒理研究用样品的相关要求和GLP的有关规定执行。

2 研究应遵循的基本原则

2.1 受试物应具有代表性

药物非临床安全性评价的目的在于通过动物实验发现药物的毒性和潜在危害,为指导临床试验设计、保障临床用药安全提供支持。因此,毒理研究用受试物应能充分体现临床试验用样品和申请上市样品的质量属性和安全性,一般应为中试以上规模的样品。根据中药相关指导原则的要求应对制备受试物所用药材/饮片、生产工艺、质量控制、稳定性等进行研究,通过系统研究明确制备受试物所用药材的基原及产地、饮片炮制、工艺路线及关键工艺参数、质量控制指标及方法、稳定性及包材,采用药理学研究确定的处方、工艺制备受试物,确保受试物质量稳定、可控。

2.2 与GLP相协调

GLP对于保障药物安全性评价的规范性具有重要作用,其从试验硬件和软件方面对研究过程涉及的各个环节做出了较为详细的规定。因此,毒理研究用样品的研究和过程管理应严格按照GLP的规定执行,同时应结合品种特点明确个性化要求。

2.3 加强全过程质量控制和过程管理

保证毒理研究结果的可靠性需要建立完善的质量保障体系,严格把控受试物及给药制剂制备、检测、稳定性考察,受试物转运及接收,样品档案等各个环节的规范性。中药新药毒理研究涉及多方责任,一般受试物和给药制剂由申请人和毒理研究机构分别进行研究。因此,申请人需加强对受试物研究过程中的质量控制,包括保障制备受试物所用药材/饮片的质量、受试物生产工艺的稳定性和重现性、受试物的包装材料和贮藏条件等,关注生产过程中是否会引入干扰安全性评价的因素,如树脂残留、溶剂残留、重金属和农药残留、微生物等。申请人应将受试物批次、检验报告、稳定性及有效期、包装、贮藏条件等关键信息提供给毒理研究机构,以使毒理研究机构有针对性地开展给药制剂的研究,根据受

试物特点及试验目的制定合理的试验方案,确保配制后给药制剂与受试物的药用物质基础基本一致。

2.4 具体问题具体分析

中药成分复杂、剂型多样,应充分考虑拟注册申报药物的特点,有针对性地开展毒理研究用样品的研究。例如具有中药特色的外用制剂,其给药途径不同于口服制剂,毒理试验受药物经皮给药的吸收利用程度的影响。较为常见的外用制剂包括凝胶膏、外用散剂、酒剂,在制备受试物时需考虑给药容量能否满足试验需要、毒性成分能否充分暴露、辅料组成及用量是否会对试验结果产生影响等问题^[3],以使制备的受试物具有代表性。

3 受试物研究中需关注的问题

3.1 受试物的制备

3.1.1 进行基于系统观和整体观的全局质量设计 药物的生命周期包括药物研发、临床试验、上市后商业生产等多个阶段,为保证不同研究阶段样品质量稳定,需在研发初期即进行全局质量设计。以药材基原的确定为例,《中药新药研究各阶段药理学研究技术指导原则(试行)》规定,临床前研究时需明确研究用药材的基原,Ⅲ期临床试验前需固定药材基原^[4]。指导原则从分阶段进行药理学研究的角度出发,未要求在临床前研究时即固定药材基原,申请人在研发过程中应考虑到不同基原药材所含成分差异对样品质量、药效、安全性的影响。因此,在前期研究过程中应对可能影响受试物代表性的变量进行评估、分析,确保不同研究阶段样品药用物质基础基本一致。对于具有人用经验的品种,可根据临床实践所用药物的制备情况确定药材基原、工艺等影响药物关键质量属性的要素。

3.1.2 关注工艺、剂型、辅料的影响 一般应优先考虑以制剂作为中药新药毒理研究用受试物,若经研究发现制剂无法满足给药容量、给药方法等试验需要时,则可考虑以浸膏、浸膏粉等中间体作为受试物,但应确保辅料、剂型对药物的吸收利用不产生明显影响,如拟申报剂型为阴道给药或直肠给药的栓剂或为具有缓释作用的微球,若以浸膏/浸膏粉代替制剂作为毒理研究用受试物且直接作用于实验系统,剂型因素导致受试物释药速度等与制剂存在差异,可能对药物的吸收利用产生明显影响,从而无法准确评价药物的安全性,进而影响毒理研究结果的科学性和可靠性。另外,某些含有渗透促进剂等对药物吸收利用有明显影响的特殊辅料制剂,如无法

以制剂作为受试物,至少应采用该特殊辅料制备受试物,并充分评估辅料与浸膏用量比例、不同辅料用量比例等对试验结果的影响,建议模拟制剂处方组成,采用相同的比例制备受试物。

对于按照既定的工艺制备成浸膏/浸膏粉但仍无法满足试验所需暴露量的情况,研究者常考虑采用提高受试物所含饮片量的方式来提高给药剂量,如改变辅料用量。一般应保证受试物的生产工艺、辅料种类与制剂一致,如为满足试验需要而变更工艺、辅料的,其改变不引起药用物质基础、吸收利用的明显改变。如制剂为口服溶液,为增加载药量而在制成制剂后将制剂进一步浓缩作为受试物,应考察浓缩对样品关键质量属性的影响,评估其与制剂质量的一致性。

毒理研究用辅料对照一般为辅料与适当溶媒混合制备而成并作用于实验系统,若给药制剂为注册申报的制剂,则辅料对照中辅料组成和用量应与申报制剂的制剂处方保持一致。

3.1.3 受试物生产规模的匹配性 毒理研究用受试物与临床试验用样品及申请上市样品生产规模的匹配性也是保证受试物具有代表性的重要条件。中药新药的研究是阶段性的,一般毒理研究在前临床试验在后。作为药品研发的中间阶段,毒理研究用受试物的制备规模常小于临床试验用样品和申请上市样品,若不同研发阶段样品的生产规模差异过大,则受所用生产设备适用性和工作原理不同等因素的影响,可能会导致出膏率、药效成分含量等发生明显改变,从而影响样品的关键质量属性。因此,一般应采用中试及以上规模的样品作为毒理研究用受试物。

3.1.4 通过源头控制和全过程质量控制降低质量波动 保障毒理研究用受试物代表性的另一关键要素是保证批内、批间及不同研究阶段样品质量的一致性,因此需要建立全过程的质量控制体系。受试物制备过程中,导致其质量波动的因素较多,建议通过建立相应的质控措施来降低质量波动,如不同研究阶段投料用饮片的质量可能受药材生长年限、产地的影响而存在质量差异,为保证制得样品质量的一致性,应考虑药材、饮片、受试物的质量相关性,建议研究建立药材、饮片的内控标准,采用合适的指标从源头控制产品质量,如规定药材的产地和生长年限、研究建立指纹/特征图谱、拟定合理的指标成分限度范围等,可参考已发布的《中药均一化研究技术指导原则(试行)》^[5]建立适当的投料措施;通过

控制生产工艺涉及因素来降低质量波动,研究明确关键工艺步骤、关键工艺参数及限度范围等。

3.2 质量可控性

研究建立受试物的质量标准对于评价受试物的稳定、均一具有重要作用。采用浸膏/浸膏粉作为受试物的,由于浸膏/浸膏粉常为制剂生产过程中的关键中间体,通常在工艺过程中已建立了相应的中间体质量标准,因此,毒理研究用受试物的质量标准可参考中间体质量标准建立。如中间体质量标准不能全面反映受试物的质量属性和安全性,应研究增加相应检测项目/指标。可参考《中药新药质量研究技术指导原则(试行)》^[6]、《中药新药质量标准研究技术指导原则(试行)》^[7]建立受试物质量标准,根据受试物理化性质、稳定性、工艺等方面的特点选择质量控制指标,重点考察对药物安全性、有效性有较大影响的指标,所选指标应能反映药材-饮片-样品的质量相关性、量质传递关系。基于毒性成分选择质控指标,如处方中含有细辛、马钱子、雄黄等毒性成分明确的药味,应针对该药味建立相关毒性成分的限量检查方法;基于工艺特点选择质控指标,如生产工艺中提取、纯化等工艺步骤引入的有机溶剂残留、树脂残留等,应根据所用树脂、溶剂的残留、富集情况制定合理的控制方法。

由于中药新药的质量研究是一个动态过程,在毒理研究时质量标准可能尚未建立完善,因此,后续可根据完善后的质量标准重新对毒理研究用受试物进行检验,进一步比较与临床试验用样品及申请上市样品质量的一致性。

3.3 稳定性

毒理试验中受试物的稳定性研究是为了支持毒理试验给药期限内样品质量稳定,建议根据毒理试验给药期限确定受试物的稳定性考察方法、考察时间等,可参考《中药、天然药物稳定性研究技术指导原则》^[8]进行稳定性研究,并应考虑温度、光照、湿度、包装材料等因素对受试物质量的影响。

受试物的稳定性研究可在毒理学试验前完成,也可与毒理学试验同期进行。若与毒理学试验同期进行,则受试物标签中的“有效期”可根据已完成的稳定性考察结果和变化趋势进行预测,为暂定的有效期,实际的有效期应根据最终稳定性研究结果确定。

应采用拟定的受试物质量标准对稳定性研究用样品进行测定,但同时应根据受试物理化性质等特

性增加检测指标(如吸湿增重等),以降低因受试物放置过程中质量波动较大而影响毒理试验结果准确性的风险。受试物稳定性考察过程中,如对受试物质量标准进行修订完善,建议按照修订后的质量标准对后续稳定性试验用样品进行测定。应根据稳定性试验结果确定受试物的贮藏条件、包装和有效期,所选包装材料性质应稳定,不与受试物发生相互作用,不影响受试物质量。

4 给药制剂研究中需关注的问题

毒理学试验中如受试物直接作为给药制剂则按照受试物相关要求进行研究,对于受试物经适当溶媒配制后作为给药制剂的情况,鉴于其在配制、分析、稳定性考察等方面有其自身特点,因此应关注以下内容。

4.1 建立合理的配制方案

4.1.1 关于溶媒的选择 配制用溶媒的选择应从保证给药制剂与受试物质量一致为前提综合考虑多方面因素,如所选溶媒的安全性、溶媒刺激性、受试物理化性质、受试物在溶媒中的稳定性、不同剂量组的质量差异等。

应确保所选溶媒的安全性,以减少因溶媒自身有毒而影响对受试物潜在毒性的评价。所选溶媒不应与受试物发生相互作用,避免产生影响安全性评价的物质。为使毒理试验过程中试验动物的顺应性较好,应避免选用有刺激性、气味较大的溶媒配制受试物。保证给药制剂质量的稳定、均一是进行毒理试验的基础,对于水溶性较差的受试物,可考虑配制混悬液。特殊溶媒应考虑在试验中增设溶媒对照组。另外,应同时结合给药剂量、试验周期选择溶媒,考虑配制用溶媒对试验结果的影响。

4.1.2 配制过程中的注意事项 应关注影响受试物配制的因素,如配制温度、搅拌时间、搅拌转速、光照(是否需要避光配制)、加热温度等。考虑到中药的复杂性以及有些毒理试验给药期限较长,给药制剂长时间放置可能导致其质量发生明显改变,因此建议给药制剂采用现用现配的方式。

应采用所建立的配制方案进行给药制剂的配制,并应有完整的配制记录,如配制日期、配制条件(温湿度、是否避光等)、配制方法、受试物取样量、溶媒加入量、配制浓度等。配制后的给药制剂应标注有效期、配制日期、贮存条件等信息。

4.2 加强给药制剂的质量控制

给药制剂的质量分析是为了检测其与受试物质

量的一致性,应关注受试物与给药制剂的量质传递,必要时进行质量相关性分析。除参照受试物质量标准对相应的质控指标进行检测外,给药制剂的质量控制还应重点关注对稳定性、均一性的考察。

由于给药制剂的配制、分析一般由毒理研究机构完成,因此,可能未形成给药制剂质量标准,但应明确检测方法、检测指标、限度或限度范围等,通过系统的方法学验证确保所建立检测方法可行、检测结果可靠。在选择给药制剂质量控制指标时,一方面可参考受试物的质量研究结果选择合适的指标,另一方面应根据给药制剂的特点建立考察样品混合均匀性的检测项目,并根据受试物特点以及具体毒理试验的要求明确各检测项目的可接受限度,以确保试验期间给药制剂的质量稳定、均一。检测次数应结合毒理试验给药期限的长短确定,对于试验期限较短的毒理试验,通常在试验首末次对给药制剂进行检测。如试验期限较长,则应规定合适的检测频率。对于给药制剂为混悬液等非真溶液的,应重点关注给药制剂的均一性,一般对混悬液的上、中、下3层进行采样分析,计算标准偏差,并规定可接受的标准偏差范围。

另外,毒理试验期间需关注受试物批号是否发生变化,如因某一批次受试物制备量不足等原因而增加新批号受试物的,应对新批号受试物制备的给药制剂重新进行分析。

4.3 保证给药制剂的稳定性

GLP中规定“当受试物和对照品需要与溶媒混合时,应当进行稳定性分析,确保受试物和对照品制剂处于稳定状态,并定期测定混合物制剂中受试物和对照品的浓度、均一性”。鉴于给药制剂可能并非全部现用现配,也存在需放置一定时间的情况,因此对于确需放置的给药制剂应对其进行稳定性考察,考察时间应根据毒理试验的给药期限确定,并应对毒理试验涉及给药制剂的全部浓度进行检测,根据考察结果确定给药制剂的使用期限、贮藏条件等。若稳定性试验结果显示随着放置时间的延长,给药制剂质量发生变化,则应查找影响其质量稳定的原因并采取相应措施。

5 建立样品档案,保证可溯源性

2020年发布的《中药注册分类及申报资料要求》^[1]规定应提供毒理试验用样品的制备信息,一般应包括:①毒理试验用样品的生产数据汇总,包括批号、投料量、样品得量、用途等;毒理学试验样品

应采用中试及中试以上规模的样品。② 制备毒理试验用样品所用处方药味的来源、批号以及自检报告等。③ 制备毒理试验用样品的主要生产设备的信息。④ 毒理试验用样品的质量标准、自检报告及相关图谱等。

因此,中药新药毒理研究过程中应有完整、规范的原始记录,既有利于注册申报资料的整理,同时也便于对毒理试验进行回顾性分析。GLP 中对数据、样品的管理已有相关规定,那么在符合 GLP 要求的基础上应建立完善的样品档案,其涵盖范围应尽可能全面,建议对受试物和给药制剂研究全过程的数据、图谱、信息等资料进行存档,包括但不限于工艺研究资料、质量研究资料、稳定性研究资料。一般申请人和毒理研究机构分别对受试物和给药制剂进行研究,对于存档内容、档案管理等方面的要求双方应自行协调安排。

6 加强样品管理,保证样品质量

申请人和毒理研究机构应按照 GLP 中相关规定(如存放、转运、留样等)对毒理研究用样品进行管理,确保样品在试验各阶段质量稳定、均一,避免因外界因素影响而使样品质量发生改变。

7 结语

毒理研究是中药新药研发的关键阶段,应通过全过程质量控制和整体性质量设计来保障毒理研究用受试物的质量,采用前期研究确定的处方、工艺制备受试物,使其能体现临床试验用样品及申请上市样品的质量属性和安全性,为毒理试验结果的科学性和可靠性提供基础,为临床试验的实施提供参考。

考虑到中药成分复杂、剂型多样,应结合品种特点有针对性地开展毒理研究用样品的研究。

[参 考 文 献]

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药监局关于发布《中药注册分类及申报资料要求》的通告(2020年第68号)[EB/OL]. (2020-09-28). <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20200928164311143.html>.
- [2] 国家食品药品监督管理总局.《药物非临床研究质量管理规范》(国家食品药品监督管理总局令第34号)[EB/OL]. (2017-08-02). <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/bmg-zh/20170802160401550.html>.
- [3] 岑小波, 韩玲. 中药新药非临床安全性和评价的思考[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(12): 1343-1358.
- [4] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《中药新药研究各阶段药学研究技术指导原则(试行)》的通告(2020年第37号)[EB/OL]. (2020-11-02). <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/49fe122537610d8d46f8c5b63c9b335e>.
- [5] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《中药均一化研究技术指导原则(试行)》的通告(2020年第38号)[EB/OL]. (2020-11-04). <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/8a042d3cea539a543a2ea68b58927662>.
- [6] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《中药新药质量研究技术指导原则(试行)》的通告(2021年第3号)[EB/OL]. (2021-01-04). <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/eda07852d89f6fa7a6da7db6577d5695>.
- [7] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《中药新药用药材质量控制研究技术指导原则(试行)》等3个指导原则的通告(2020年第31号)[EB/OL]. (2020-10-12). <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/4f9393f8e9e02a253f7649ec28941ac0>.
- [8] 国家食品药品监督管理总局. 关于印发中药、天然药物稳定性研究技术指导原则的通知(国食药监注[2006]678号)[EB/OL]. (2006-12-30). <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/fgwj/gzjw/gzjwyp/20061230010101209.html>.

编辑:杨青/接受日期:2023-02-02