

药物代谢产物安全性试验技术指导原则

Technical Guidelines on Safety Testing of Drug Metabolites

一、概述

药物安全性的非临床研究通常由标准的动物毒理学试验组成，这些试验通常包含了药物暴露量的评价，主要是母体药物血浆浓度的评价。一般情况下，通常将非临床试验中获得的血浆药物浓度和系统暴露量与人体的系统暴露量进行比较，对非临床试验结果提示的潜在风险进行评估，并指导临床试验中的风险控制。当人体中的代谢特征与非临床试验中使用的至少一种动物种属中的代谢特征相似时，这种试验模式通常认为是可行、充分的。但是，不同动物种属的代谢特征在质和量上均可能存在差异，而且还存在临床相关的代谢产物在非临床安全性试验中未被确定或未被充分评价的情况。如果某种代谢产物仅在人体中出现而在受试动物种属中不存在，或者某种代谢产物在人体的暴露比例水平高于采用母体药物进行标准毒理学试验的动物种属中的暴露比例水平时，代谢产物的安全性就值得关注，应考虑进行代谢产物的非临床安全性评价。

二、背景信息

常规情况下，临床前安全性试验不要求在动物中对代谢产物进行评价。因此，代谢产物在总体药物毒性中的作用通常不明确。缺乏代谢产物在药物毒性中作用的评价，其部分原因可能是因为用于检测和鉴别母体药物代谢产物特征的分析方法的灵敏度不够。随着过去 10 年的技术进步，分析检测能力有了显著提高，现在已能够对代谢产物进行检测、鉴别和定性，这将有助于

更好理解代谢产物在药物安全性评价中的地位。

进入机体的药物通常通过 I 相和 II 相代谢途径进行生物转化。根据所涉及的化学反应性质，I 相反应产生的代谢产物，很可能具有化学反应性或/和药理学活性，因此可能更需要进行安全性评价。活性代谢产物可能与治疗靶点受体或其他受体结合，或与其他靶点（如酶、蛋白）相互作用，引起非预期的效应。尤其是当代谢产物仅在人体中形成时，这个问题更为重要。但是，仅在人体中存在而不在实验动物种属中存在的代谢产物，出现的几率极低。更为常见的情况是，人体中形成的代谢产物比例水平远远高于母体药物在动物安全性试验中代谢产物的比例水平，这缘于人体和动物的代谢特征存在质和/或量的差异。如果在母体药物的毒理学试验中确定至少有一种实验动物种属中形成特定代谢产物的暴露量水平足够高（与人体暴露量大致相当或更高），则可认为该代谢产物对总体毒性的作用已经得到了确定。代谢产物安全性评价的决策流程图见附录 A。

对于代谢产生的活性中间体，因其半衰期短，常难以检出和测定。但是，它们能形成可检测的稳定产物（如谷胱甘肽结合物），因此可能不需要对活性中间体做进一步的安全性评价。II 相结合反应通常会使一个化合物的水溶性增加并失去药理学活性，故也不再需要进一步评价。但是，如果结合反应形成一种毒性化合物如乙酰葡萄糖醛酸（acylglucuronide），则可能需要进一步的安全性评价。

若研究发现代谢产物在靶受体上无药理学活性，这并不能确保其无毒性，该代谢产物也可能需要在非临床毒理学试验中进行安全性评价。列举案例见附录 B。

三、目的和适用范围

本指导原则主要针对需要进行非临床毒性评价的药物代谢产物，为研发者何时以及如何鉴定高比例药物代谢产物并研究其安全性特征提供建议。

本指导原则适用于小分子化学新药。本指导原则不适用于那些需要考虑风险效益评价的抗肿瘤药物。针对抗肿瘤药物代谢产物的安全试验可参考 ICH S9 指导原则。

注册申请人可就具体药物研发中的代谢产物安全性评价与药品审评部门进行交流。

四、代谢产物安全性试验的一般考虑

在药物开发过程中应尽早确认非临床安全评价中所用动物种属和人体间的药物代谢差异。如在获得人体药代数据后，通过比较药代信息决定是否需要尽早开展代谢产物的安全性评价。在药物开发晚期发现高比例药物代谢产物（Disproportionate drug metabolite）时可能会导致药物开发或上市延迟。

一般情况下，对于仅在人体中出现的代谢产物，或人体中代谢产物水平远高于已知或已进行评价的实验动物种属中的水平时，应考虑进行安全性评价。若人体中的代谢产物水平高于稳态时体内药物总暴露量的 10% 时，通常会引起安全性担忧。代谢产物水平通常采用曲线下面积（AUC）来表示，但有时也会采用达峰浓度（C_{max}）来表示。

（一） 评价代谢产物安全性的一般方法

如果在动物中发现的代谢产物在人体中不存在，意味着在该动物种属中观察到的代谢产物引起的毒性可能与人体无相关性。相反，如果在临床开发过程中发现的代谢产物在实验动物种属中不存在，或在动物中水平远低于人体水平，则建议进行进一步的动物试验以确定该代谢产物的潜在毒性。

这种情况下，可考虑采用以下两种方法来评价药物代谢产物的安全性。第一种方法是，确定一种在常规毒理学试验中的动物种属，在该动物种属上能形成充分暴露水平的该代谢产物（与人体暴露量相当或更高），然后在该动物种属中研究药物毒性。第二种方法是，如果不能确定一种形成该代谢产物的相关动物种属，则可合成该代谢产物，通过掺入法或直接给药来开展进一步的安全性评价。上述试验需建立能够在非临床毒理学试验中鉴别和检测该代谢产物的分析方法。

众所周知，特定代谢产物的合成存在困难，代谢产物直接给药也有其固有的复杂性。直接将代谢产物给予动物，可能还会存在后续代谢，因而可能无法反映临床实际情况，这样使得毒理学评价变得复杂化。以代谢产物给药可能会出现在母体药物试验中未观察到的新的毒性，但尽管有这样的复杂问题，检测和评价药物代谢产物潜在的毒性，对于保障药物的临床安全性仍具有重要性。确定是否进行直接的代谢产物的安全性试验，应基于对母体药物的数据以及代谢产物各方面信息的综合评价。

（二） 代谢产物鉴别

在药物开发过程中需要确定药物的代谢特征，可以在不同开发阶段，通过体外和体内试验方法来完成代谢特征的确定。体外试验可采用不同动物和人体的肝微粒体、肝脏切片或肝细胞，体外试验通常应在临床试验开始前进行。非临床试验动物种属中的体内代谢试验通常应在药物开发早期进行，其结果可以证实体外试验获得的结果，或者提示动物种属间代谢存在的质和/或量的差异，而后者可能会带来安全性担忧。人体的体内代谢试验通常是在药物开发的相对后期进行，但仍建议人体内代谢研究尽早进行。

对于在非临床试验动物中暴露水平远低于人体的代谢产物，其暴露是否

充分应具体问题具体分析。通常情况下，通过测定稳态时血清或血浆中药物浓度来分析系统暴露量。但如果由于某种原因无法在受试动物的血浆中测定时，则可通过测定代谢产物在其他生物基质的水平以验证暴露是否充分，如尿液、粪便或胆汁。

（三）非临床试验设计的一般考虑

对一种高比例药物代谢产物设计非临床试验时，需要考虑以下因素：代谢产物与母体分子的相似性，药理学或化学分类，溶解性，胃液环境下的稳定性，I 相或 II 相代谢产物，人体中暴露水平与动物中暴露水平的相对量。

其他需要考虑的因素包括药物拟定适应症和患者人群[例如对于严重疾病适应症时非临床试验可以简化，如肌萎缩性侧索硬化症（ALS）]。在对代谢产物设计非临床试验时，还需要考虑拟定的用药疗程（短期、中期或长期用药）以及治疗剂量下的暴露水平。

五、推荐的代谢产物的安全性试验

需要进行安全性评价的药物代谢产物的非临床试验应符合 GLP。可能需要进行以下试验来评价高比例药物代谢产物的安全性。

（一）一般毒理试验

在一般毒理试验中，应评价高比例药物代谢产物的潜在毒性，进行代谢产物与其母体药物间的毒性比较。代谢产物直接给药的一般毒理试验的期限，可参考国内相关指导原则和 ICH M3（支持药物进行人体试验需要的非临床安全性试验）技术指导原则。应在数倍于人体暴露量或者在至少与人体中检测到的暴露量相当水平下评价代谢产物的毒性。建议采用母体药物拟定的临床给药途径给药。但如果可以使高比例药物代谢产物达到足够的暴露量，也可

以采用其他给药途径。如果临床给药途径为口服，确认代谢产物在胃液环境中的稳定性十分重要。为了保证高比例药物代谢产物的充分暴露，上述试验中需包括毒代动力学研究。

（二） 遗传毒性试验

需以一项检测点突变的体外试验和另外一项检测染色体畸变的试验来评价代谢产物的潜在遗传毒性。这些试验可参考SFDA《药物遗传毒性研究技术指导原则》。如果其中一项试验或两项试验结果是可疑和/或阳性时，可能需要进行完整的遗传毒性标准组合试验。

（三） 胚胎-胎仔发育毒性试验

如果药物拟定的用药人群包括有生育可能的妇女时，需进行代谢产物的胚胎-胎仔发育毒性试验。根据一般毒理试验和胚胎-胎仔发育毒性试验的结果，在具体问题具体分析的基础上，可能会要求进行其他生殖毒性试验。这些试验可参考SFDA《生殖毒性研究技术指导原则》。某些情况下，可仅在一种能形成该代谢产物的动物种属中进行胚胎-胎仔发育毒性试验。

（四） 致癌性试验

药物连续用药至少6个月，或需间歇用药用于治疗慢性或周期性复发疾病，如果在母体药物的致癌性试验中不能对代谢产物的致癌性潜力进行充分评价，则应该进行代谢产物的致癌性试验。这些试验可参考SFDA《药物致癌试验必要性的技术指导原则》和国外的致癌性试验技术指导原则。

六、安全性研究的时间安排

需尽早确证人体中可能存在的高比例药物代谢产物，这可以为非临床试验的合理性提供证明，有助于阐明和制订临床试验计划，并避免药物开发进程的延迟。通常首先采用体外试验来预测动物和人体的药物代谢差异，然后

根据人体和动物的代谢差异来考虑是否需要开展药物代谢产物的安全性试验。如果在体外代谢研究提示有人体的高比例药物代谢产物，可考虑开展动物和人体的同位素标记法的代谢研究，为开展高比例药物代谢产物的临床前安全性研究提供依据。

如果需要进行代谢产物的毒理学试验，应在大规模临床试验开始前完成这些试验，并向药品审评部门提交试验报告。

为了优化和加快研发用于包括肿瘤疾病在内的其它严重或危及生命疾病（如ALS、中风、HIV）的药物，对于那些具有重大治疗利益的药物，以及用于尚缺乏有效治疗手段疾病的药物，代谢产物的非临床试验的数量和类型可根据具体情况具体分析的原则进行调整。晚期癌症患者治疗时，这些代谢产物并不要求必需开展单独的毒理评价。此种情况下，申办人应联系相关药品审评部门进行讨论。

词汇表

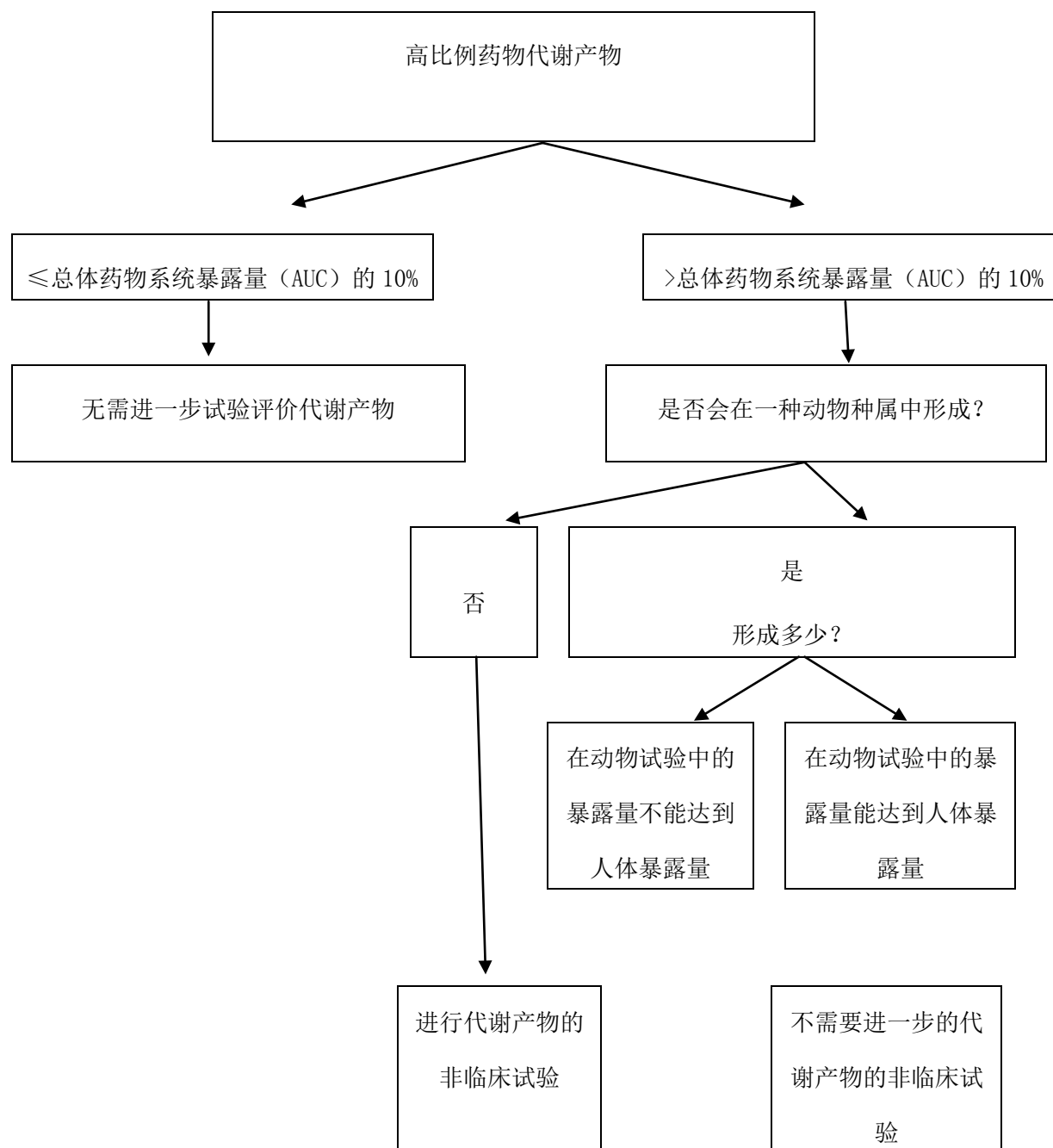
高比例药物代谢产物 (Disproportionate drug metabolite): 仅在人体存在的代谢产物，或在人体循环系统的暴露量显著高于非临床试验所用动物中暴露量的代谢产物。一般情况下，以稳态的曲线下面积 (AUC) 来计算。血浆水平中高于人体总体药物系统暴露量 10% 的代谢产物应给予关注。

代谢产物 (Metabolite): 母体药物经过 I 和/或 II 相代谢途径产生的物质。

药理活性代谢产物 (Pharmacologically active metabolite): 在靶受体具有药理学活性的代谢产物，其活性可能高于、等于或低于母体药物。

附录 A

决策流程图



案 例

案例 1

从初步的物料平衡试验中发现，1 种代谢产物在大鼠血浆中约占总放射性剂量的 1%-2%，犬中为 5%，人体为 20%（尿液和/或粪便中该代谢产物的放射性很低）。根据上述数据，人体中该代谢产物的暴露量比动物高达 20 倍，因此建议进行代谢产物的非临床安全性试验。但是，大鼠和犬中母体药物一般毒理试验的数据提示，测试的最高剂量下产生的代谢产物暴露量至少与最大推荐人用剂量时的治疗暴露量相当。同时，以母体药物进行的体内遗传毒性试验、胚胎-胎仔发育毒性试验及致癌性试验中，检测该代谢产物的血浆浓度后发现有足够的该代谢产物的暴露量，因此不需要对该代谢产物进行其他试验。

案例 2

采用人、猴、大鼠、犬、家兔和小鼠的肝细胞和肝微粒体检测发现，两种初级羟基化代谢产物 M1 和 M2 进一步氧化形成次级代谢产物 M3 和 M4。后续体内试验数据也证实了该代谢特征。药代研究信息如下：1) M1 与 M4 是人体、猴和犬微粒体中的主要代谢产物，而大鼠、小鼠和家兔微粒体中的是 M2 和 M3。2) 在人体中形成的 M4 水平比母体药物高 4 倍，但 M4 在啮齿类动物中的水平很低，在猴中仅占母体药物暴露量的 1/3（见下表）。

表：最高剂量下的 AUC_{0-24hr}

	人体 (MRHD)	猴	大鼠
母体药物	1,800	15,000	12,500
M4	7,700	5,000	135

安全性研究显示：在猴中母体药物出现了严重的药物相关的、新的靶器官毒性，而大鼠中未出现。此外，在药物靶受体中 M4 无药理学

活性。

为此，代谢产物 M4 进行了以下附加试验：

重复给药毒性试验：大鼠 3 个月毒性试验；

大鼠胚胎-胎仔发育毒性试验；

体外遗传毒性试验：M4 的点突变和染色体畸变试验结果为阳性，母体药物为阴性。

由于遗传毒性试验结果为阳性，建议进行一项 M4 的致癌性试验。

案例 3

M2 是一种 I 相氧化代谢产物，在人体中高达母体药物暴露量的 50%，在小鼠中约为母体药物暴露量的 10%，犬中约为母体药物暴露量的 15%，大鼠中仅为痕量。这些动物种属的体外代谢试验结果支持体内研究结果。根据构效关系分析结果，与母体药物分子比较，该代谢产物预期不会产生任何不同的毒性或加重毒性。在安全性评价试验所测试的所有动物种属中，母体药物未见明显毒性，也未见可确定的毒性靶器官。但是，由于人体中出现了高比例药物代谢产物，故需要进一步的安全性试验。在犬的短期耐受性试验中，M2 出现了非预期的、显著的心脏毒性，包括所有剂量和所有受试犬。M2 对治疗靶受体无药理学活性。

参考文献

1. FDA Guidance: Safety Testing of Drug Metabolites, 2008
2. ICH M3(R2): Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals, 2010
3. ICH S9: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals, 2010
4. ICH S6: 生物技术药物的临床前安全性评价和S7A人用药物安全药理学研究指导原则
(<http://www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html>) 。
5. ICH S3A: 毒代动力学指导原则注释: 毒性研究中全身暴露量的评价
(<http://www.ich.org/cache/compo/276-254-1.html>) 。
6. U.S. Environmental Protection Agency, 1998, Health Effects Test Guidelines, OPPTS 870.7485, Metabolism and Pharmacokinetics.
(<http://www.epa.gov/epahome/research.htm>) 。

起草说明

1. 本指导原则主要参考 USA FDA 的指导原则 Safety testing of drug metabolites 来起草，同时也考虑了 ICH M3 中对代谢物的安全性研究要求。指导原则内容代表了目前国际上对药物代谢产物安全性研究的基本要求。

2. 考虑到该技术要求在国内尚处于起始阶段，文中简介了如何识别药物代谢产物的种属差异，以及何时关注代谢产物安全性的时间安排，具体见第 6 部分。关于具体的体外代谢研究方法和体内的放射自显影方法，需要结合其他相关指导原则要求来一并考虑。

3. 关于代谢比例的 10%，原文中是指母体药物暴露量的 10%，在专家讨论中认为，国外已经认为该定义方法存在问题，在后续讨论中认为应该将分母定义为原型药物和代谢物的总体药物暴露量，因此明确 10% 是指药物总体暴露量的 10%。

4. USA FDA 指导原则中的 Disproportionate drug metabolite 在翻译中有不同译法，最后统一为高比例药物代谢产物，并通过定义对其给予具体说明。

5. 关于参见的安全性研究指导原则，如果 SFDA 已经发布，则将 USA FDA 指导原则原文中的 ICH 或 FDA 相关指导原则修改为 SFDA 已经发布的指导原则。