

# 国际人用药品注册技术协调会

## ICH 协调指导原则

**ICH S3A 问题和回答：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 问题和回答  
(中文翻译公开征求意见稿)**

**终版**

**日期：2017 年 11 月 16 日**

本指导原则由相应 ICH 专家工作组制定，并经监管部门根据 ICH 流程进行协商。在该流程的第 4 步，建议 ICH 地区监管机构采纳最终草案。

### S3A 问题和回答 文件历史

代码	发展史	日期
S3A 问答	在第 2 步中经管理委员会批准并且发布征求公众意见	2016 年 5 月 19 日
S3A 问答	在第 4 步中经 ICH 大会管理成员采纳（文件日期为 10 月 12 日）	2017 年 11 月 16 日

**法律通告：**该文件有版权保护，在承认 ICH 版权的情况下，可以持公共许可证被使用、翻印、合并至其他著作中、改编、修正、翻译或传播。如果对该文件进行改编、修正或翻译，必须采取合理措施来明确标明、区分或确认所作的变更或所依据的原始文件。应避免留下“原始文件更改、修正或翻译得到 ICH 同意或发起”的印象。

文件应按照现在的样子提供，不附带任何保证。ICH 或原文件作者绝不会对任何索赔、损失或使用文件所产生的其它责任负责。

上述提到的许可不适用于由第三方提供的内容。因此，对于版权归属第三方的文件，必须征得版权所有人的翻印许可

# ICH 协调指南

ICH S3A 问题和回答：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 问题和回答

ICH 共识指南，问题和回答

## 目录

前言.....	1
1. 前言-范围.....	1
2. 微量采样法应用的基本原则.....	1
3. 对安全性评价的影响.....	3
4. 与生物分析方法有关的问题.....	4
5. 附录：与 ICH S3A 指导原则相应章节关联的问题和回答....	6

## ICH S3A 问题和回答

### 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，使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，并且通过消减或消除毒代动力学卫星组动物的必要性，对 3R 获益（替代、减少和改善）做出全面的总体贡献。

### 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毒代动力学参数。微量采样技术的适当基质包括血液及其衍生的血浆或血清，可以使用液体形式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的文件中。

#### 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类动物的动物福利（改善）。微量采样法还可以在主研究动物的毒代动力学评价中消除使用 TK 卫星组，或消减啮齿类动物研究中 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，因为使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数。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小样本体积。

微量采样可应用在所有类型的毒理学研究中，例如单次给药或重复给药毒理学研究以及其他毒理学研究（如致癌性、幼龄动物和生殖研究）。当使用微量采样法时，如同 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，可以采用微量采样，即使大多数或所有样本低于生物分析方法的定量下限。

#### 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害有哪些？

**回答 4:** 与动力学采样的其他方法相同，为了正确地采纳微量采样技术，应开发并定性一种生物分析方法（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、精确度、保存前使用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时，拟定在其他研究中采用微量采样法时，在特定基质中确认微量采样与传统采样方法间的暴露量测定可比性可能是必须的。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。这种对比可以在一项独立的药代动力学（PK）研究中进行来测定基质水平 AUC 和/或  $C_{max}$ ，在对适当的浓度范围内，对两种方法间比较获得的参数进行评价。如果需要，该 PK 研究应在进行使用微量采样法的明确研究之前完成。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，如采用相同测定条件对取自相同部位的血液、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，以检查测定值的变异性。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来正确评价系统暴露量。

### 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，样本可使用适当的溶剂或空白基质稀释。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准确体积的血液，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健康的影响？

**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样本数；2) 受试药物的特性（如对红细胞的影响或抗凝剂特性，或血流动力学特征）；3) 试验系统（如种属、年龄、体重、总血液体积）；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，因此即使是微量采样也应正确地制定采样方案。应全面记录相关动物数据，如体重、摄食量、血液学参数（如红细胞数、血红蛋白水平、血细胞比容值、平均红细胞体积、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，这对于在特定研究条件背景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。如果既往研究证据表明频繁采血的血液样本会使受试药物相关的血液学参数变化加大，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。另外选择是，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?

**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); 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, 会导致样本被稀释; 5) 分析物吸附至收集容器的量可能增加 (如增加表面积与体积的比率); 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), 选择完全的可重复的回收方法和对检测药物干扰最小的基质是很重要的。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的血液量, 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。

如需描述已测样品再分析 (ISR) 应按区域指导原则/指南进行。在进行 ISR 时, 应注意确保为 ISR 预先保留足够的样本量或重复数量的样本 (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题和回答

ICH S3A 指导原则部分	1.1 (Q1)	1.2 (Q2)	2.1 (Q3)	2.2 (Q4)	2.3 (Q5)	3.1 (Q6)	4.1 (Q7)
1: 前言	1	1					
2: 毒代动力学的目的和测定参数			2				
3: 一般原则	3.10	3.5		3.1 3.10	3.10	3.3 3.5	3.10
4: 毒性试验不同领域中的毒代动力学——特殊方面			4				
5: 注释	注释 1	注释 1					注释 1
6: 参考文献 (其他 ICH 指南)							