

# 药物毒理学第四讲

新药的**非临床**安全性评价  
药物的生殖与发育毒性

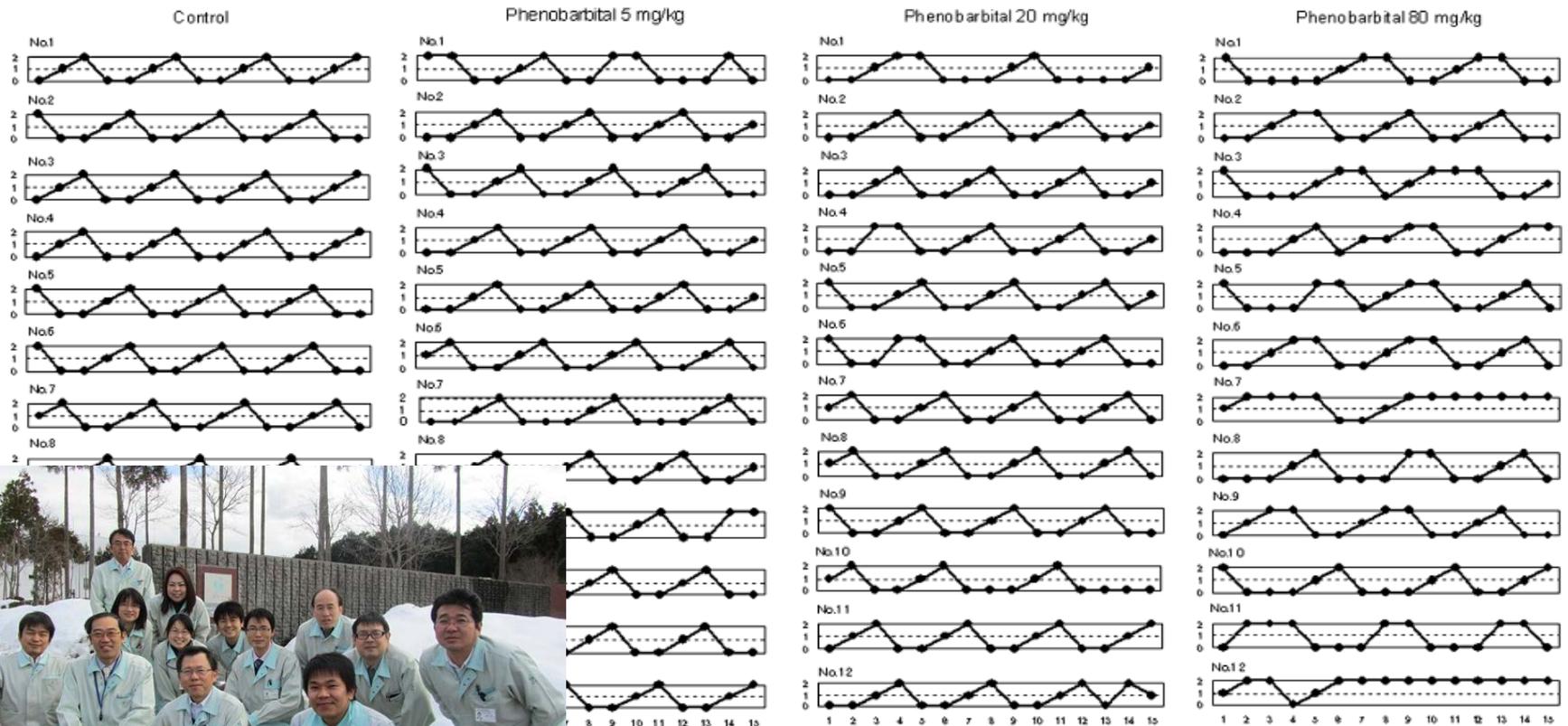
# Hypothyroidism caused by phenobarbital affects patterns of estrous cyclicity in rats

Yumei Li<sup>1,2</sup>, Toshihiko Kumazawa<sup>1</sup>, Tsukasa Ishiguro<sup>1</sup>, Yuriko Kawakami<sup>1</sup>, Hiromi Nishitani<sup>1</sup>, Yoshiaki Tagawa<sup>1</sup>, and Yukiharu Matsumoto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pharmaceutical Research Laboratories, Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd, Hokusei, Inabe, Japan; and <sup>2</sup>Department of Biopharmaceutical Sciences, College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin, China

## Persistent estrus caused by PB

57



rats. The plot for each animal is a three-level depiction of the estrous cycle; data points on the lower of diestrus, proestrus, and estrus, respectively.

# 第一节

## 新药临床前药理毒理研究的主要内容

# 1、药物注册分类

- (1) 未在国内外上市销售的药品；
- (2) 改变给药途径尚未在国内外上市销售的药品；
- (3) 已在国外市场上销售但未在国内上市销售的药品；
- (4) 改变已上市销售盐类药物的酸根、碱基，但不改变药理作用的原料药或制剂。
- (5) 改变国内已上市销售药品的剂型，但不改变给药途径的制剂；
- (6) 已有国家药品标准的原料药或制剂。

# 新药的安全性及有效性

## ❖ 药理学研究

- 主要药效学
- 一般药理学
- 药代动力学

## ❖ 毒理学研究

# 主要内容

## 药理学研究

- ☞ 主要药效学试验
- ☞ 一般药理试验
- ☞ 多成分的相互影响
- ☞ 药代动力学试验

## 毒理学研究

- ◆ 急性毒性
- ◆ 长期毒性
- ◆ 局部特殊毒性
  - ☞ 过敏性
  - ☞ 溶血性
  - ☞ 刺激性
- ◆ 免疫毒性
- ◆ 遗传毒性
- ◆ 生殖毒性
- ☞ 致癌性
- ☞ 依赖性
- ☞ 致突变试验

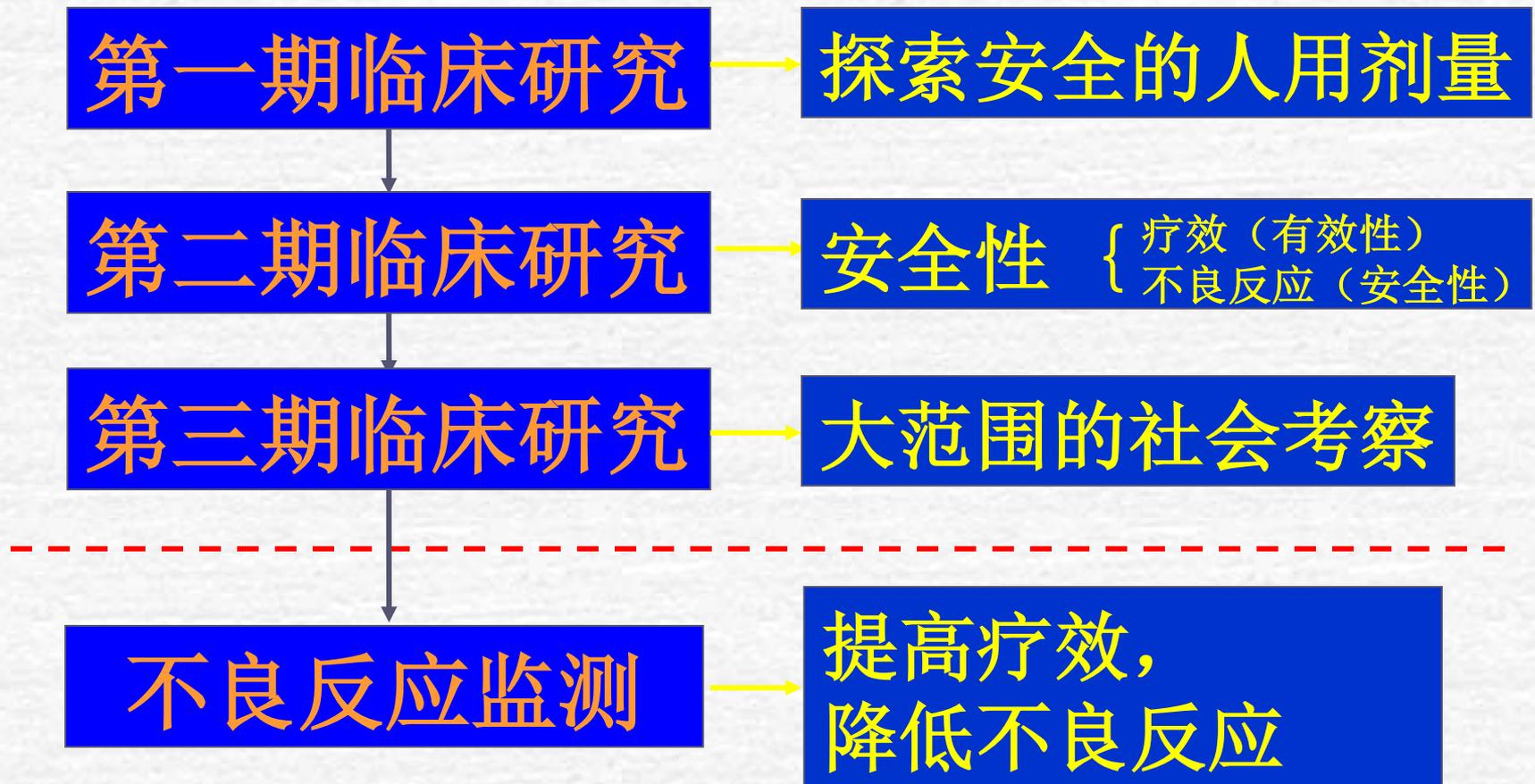
# 评价目的

1. 确定潜在的毒性靶器官和毒性反应出现的时间、性质、程度及其可逆性
2. 确定临床监测的安全性参数
3. 推算人体使用的安全起始剂量以及随后的剂量递增方案

# 一般原则

- ✓ 具体问题具体分析——品种特点
- ✓ 最大限度暴露毒性（如果临床上存在某些方面的安全性担忧时则应进行该方面的非临床安全性研究）
- ✓ 执行GLP
- ✓ 毒性暴露结果向临床过渡，利弊权衡——重在“评价”
- ✓ 药理毒理研究的整体性、综合性、阶段性
- ✓ 说明书：“严进”、“宽进”

## （四）药物毒理学研究 在新药临床试验阶段的任务



# 新药申报材料汇总

## 一、综述资料

- 1、药品名称；
- 2、证明性文件；
- 3、立题目的与依据；
- 4、对主要研究结果的总结及评价；
- 5、药品说明书样稿、起草说明及最新参考文献；
- 6、包装、标签设计样稿；

## 二、药学研究资料

- 7、药学研究资料综述；
- 8、原料药生产工艺的研究资料及文献资料；制剂处方及工艺的研究资料及文献资料；
- 9、确证化学结构或者组份的试验资料及文献资料；
- 10、质量研究工作的试验资料及文献资料；
- 11、药品标准草案及起草说明，并提供标准品或者对照品；
- 12、样品的检验报告书；
- 13、辅料的来源及质量标准；
- 14、药物稳定性研究的试验资料及文献资料；
- 15、直接接触药品的包装材料和容器的选择依据及质量标准；

## 三、药理毒理研究资料

- 16、药理毒理研究资料综述；
- 17、主要药效学试验资料及文献资料；
- 18、一般药理研究的试验资料及文献资料；
- 19、急性毒性试验资料及文献资料；
- 20、长期毒性试验资料及文献资料；
- 21、过敏性(局部、全身和光敏毒性)、溶血性和局部(血管、皮肤、粘膜、肌肉等)刺激性等主要与局部、全身给药相关的特殊安全性试验研究和文献资料；
- 22、复方制剂中多种成份药效、毒性、药代动力学相互影响的试验资料及文献资料；
- 23、致突变试验资料及文献资料；
- 24、生殖毒性试验资料及文献资料；
- 25、致癌试验资料及文献资料；
- 26、依赖性试验资料及文献资料；
- 27、动物药代动力学试验资料及文献资料；

## 四、临床研究资料

- 28、国内外相关的临床研究资料综述；
- 29、临床研究计划及研究方案；
- 30、临床研究者手册；
- 31、知情同意书样稿、伦理委员会批准件；
- 32、临床研究报告；

# 急性毒性研究

↪ 一次或24小时内多次给予

- 动物
- 给药途径
- 阴性对照组
- 判断安全范围

# 急性毒性研究

## 👉 最大无反应剂量

👉 未见反应剂量 (NOEL) : No Observed Effect Level

👉 未见不良反应剂量 (NOAEL) : No Observed Adverse Effect Level

## 👉 最小毒性反应剂量

👉 最大耐受量 (MTD) : Maximal Tolerance Dose

👉 最小致死剂量 (MLD) : Minimal Lethal Dose

👉 半数致死量 (LD50) : Median Lethal Dose

# 长期毒性研究

相关动物

给药途径

剂量

毒代动力学——药代研究在毒理学研究的延伸

 阶段性——以不同给药期限的长期毒性研究来  
分别支持药物进入 I 期、II 期或 III 期临床试验  
(生产)

## 支持临床疗程超过2 周的药物II 期和III 期临床试验所需动物长期毒性研究的最短给药期限

药物临床疗程	长期毒性研究给药期限		可以支持的临床研究阶段
	啮齿类动物	非啮齿类动物	
2 周~1 个月	1 个月	1 个月	II 期
	3 个月	3 个月	III 期 (生产)
≤3 个月	3 个月	3 个月	II 期
	6 个月	6 个月	III 期 (生产)
≤6 个月	6 个月	6 个月	II 期
	6 个月	9 个月	III 期 (生产)
>6 个月	6 个月	9 个月	II 期
	6 个月	9 个月	III 期 (生产)

# 检测指标

- 常规指标（一般症状、体重、摄食量）
- 血液学指标：10项
- 血液生化学指标：12项（非啮齿类16项）
- 尿液分析指标：9项（非啮齿类）
- 体温、血压、呼吸、心电图及眼科检查（非啮齿类）
- 组织病理学检查
  - 脏器系数：12项
  - 组织病理学检查：30项（非啮齿类33项）
- 恢复期

# 局部用药特殊毒性研究

## ☞ 刺激性

☞ 给药部位的可逆性炎症改变

## ☞ 过敏性（变态反应或超敏反应）

☞ 特异性免疫反应，表现为组织损伤或生理功能紊乱，异常或病理性的

- I型，快发或速发过敏型，IgE介导
- II型，细胞毒型或溶细胞型，IgG介导
- III型，免疫复合物型或血管炎型，IgG、IgM介导
- IV型，迟发型或结核菌素型，T淋巴细胞介导
- 光敏性
  - 光毒性（光刺激性）
  - 光过敏性（光变态反应）——IV型变态反应

## ☞ 溶血性

☞ 溶血及红细胞凝聚

- 免疫性溶血——II型和III型过敏反应
- 非免疫性溶血

# 刺激性

- ✿ 制剂
- ✿ 阴性对照
- ☞ 皮肤刺激性
- ☞ 注射给药部位刺激性
- ☞ 眼刺激性
- ☞ 其他途径给药部位刺激性

# 过敏性

## 注射给药

- 全身主动过敏试验 (ASA)
- 皮肤被动过敏试验 (PCA)

## 经皮给药

- 豚鼠最大化试验 (GPMT)
- Buehler试验 (BT)

## 吸入给药

- 豚鼠吸入诱导
- 刺激试验

## 皮肤光毒性试验

## 皮肤光过敏性试验

## ✿ 阳性和阴性对照

# 溶血性

- ☞ 体外试管法（肉眼观察）
- ☞ 分光光度法
- ✿ 阴性对照
- ✿ 阳性对照（视情况）

# 免疫毒性研究

- ☞ 评价潜在的免疫原性
  - 检测血清抗体滴度
  - 免疫复合物形成
  - 间接引起生物活性分子释放
- ☞ 病理毒性（结合在长毒中观察）
  - 淋巴器官称重
  - 血液学，血细胞分类计数
  - 免疫器官组织病理学检查

# 免疫毒性研究

## 对免疫功能的影响

- 对脾抗体形成细胞（PFC）的影响（体液免疫功能 HMI）——溶血空斑试验
- 对小鼠迟发性变态反应的影响（DTH，细胞免疫功能 CMI）——放免/DNFB二硝基氟苯
- 淋巴细胞增殖试验：有丝分裂原（PHA，ConA，LPS，PWM）刺激成淋巴细胞化作用
- NK细胞活性测定：乳酸脱氢酶（LDH）释放法

过敏反应-人源蛋白豚鼠价值很小，尚无可靠手段

# 遗传毒性（致突变）研究

- ❖ 鼠伤寒沙门氏菌营养缺陷型回复突变试验（Ames试验）
  - 阴性及阳性对照
  - S9代谢激活
- ❖ 中国仓鼠肺成纤维细胞（CHL）染色体畸变试验
  - 空白、溶剂、阳性对照
  - S9代谢激活
- ❖ 啮齿动物（小鼠）微核试验
  - 阴性及阳性对照

# 生殖毒性研究

## ❖ I 段 一般生殖毒性试验

- ✓ 雌性受孕、分娩、活胎与死胎、外观、骨骼与内脏等
- ✓ 雄性生育能力

## ❖ II 段 致畸敏感期毒性试验

- ↳ 胚胎毒性和潜在的致畸性

## ❖ III 段 围产期毒性试验

- ↳ 子代动物

# 致癌性研究

## ↳ 创新药

### ❖ 短期致癌试验

- 哺乳动物培养细胞恶性转化试验
- 小鼠肿瘤诱发试验

### ❖ 长期致癌试验

# 药物依赖性研究

↪ 具有精神神经作用的药物需要提供

- 身体依赖性试

- ➔ 镇痛药、镇静催眠药

- 催促试验

- 诱导试验

- 自然戒断试验或替代试验

- 精神依赖性试验

- 自身给药

# 非临床安全性评价的主要不同

## 生物制品

1. 科学的，“case-by-case”的设计思路
2. 通过药理作用来选择相关动物
3. 可采用一种动物
4. 免疫原性非常重要
5. 遗传毒性通常不要求
6. 代谢研究通常不要求
7. 两年的致癌性试验通常不要求
8. 没有仿制品？

## 小分子化合物

1. 大多数品种的研究内容相似
2. 通过代谢来选择相关动物
3. 要求采用啮齿和非啮齿类动物进行试验
4. 通常没有免疫原性
5. 要求进行遗传毒性研究
6. 要求进行代谢研究
7. 要求进行两年的致癌性试验
8. 有仿制品

## 第二节

# 药物生殖和发育毒性作用

**arte**

Deutsch

Programmes  
Histoire, politique & société  
Arts & musiques  
Cinéma & fiction  
Sciences & découverte

Sciences & découverte

**Documentaire**  
**Thalidomide : les parents trahis**

*Lundi 19 janvier 2004 à 22h45*



# 生殖过程

生殖细胞的发生形成 → 交配 → 受精 → 合子形成 → 着床 → 胚胎形成及发育 → 分娩 → 哺乳

生殖毒性学  
发育毒性学

# 一、生殖毒性和发育毒性常用的术语

- 1、**胚胎毒性** 指药物对胚胎的选择毒性作用。
- 2、**胚胎毒物** 具有胚胎毒性的物质。
- 3、**致畸性** 指胚胎在器官发育期接触药物后，能造成永久性结构或功能畸形。

- 4、**致畸剂** 具有致畸性并使出生缺陷发生率明显增加的物质。
- 5、**母体毒性** 指对怀孕动物的毒性效应。
- 6、**致畸指数** 指药物等对母体的半数致死量与最小致畸量之比。

## 二、男性生殖毒性学

### 男性生殖毒性学

精子的产生

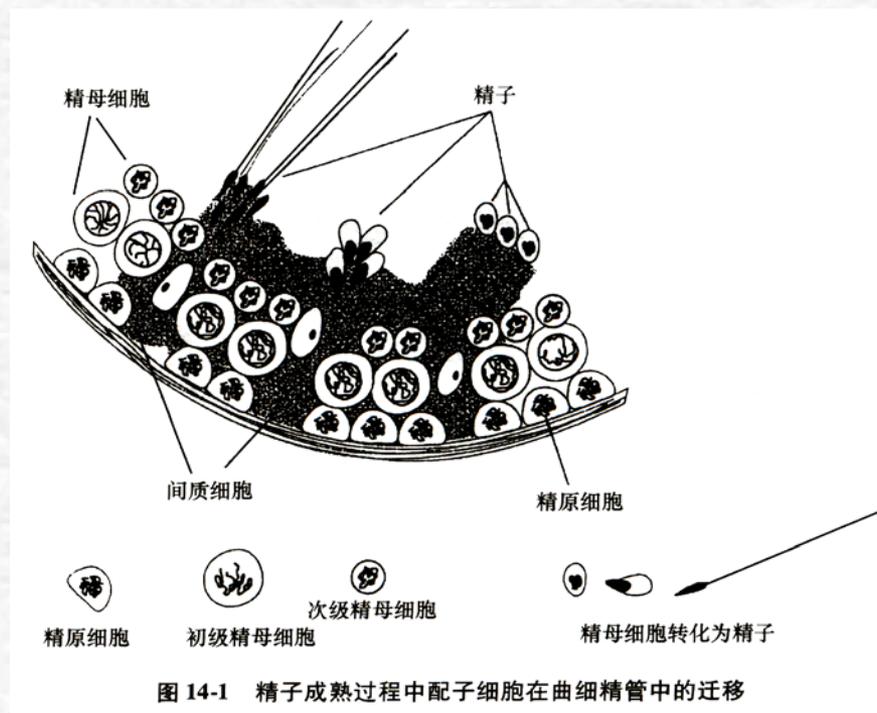
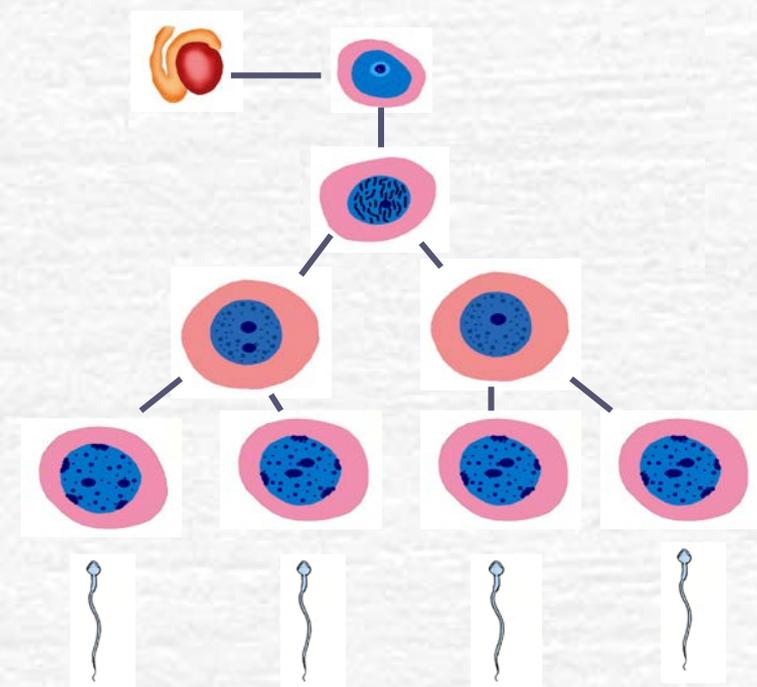
精子输送

神经系统

内分泌系统

# 一) 精子发生易感性

## 精子的产生过程



# 特定靶位—睾丸内环境

与精子快速生成过程有关的细胞分裂和代谢活性，对某些类型的损伤特别敏感。

药物特别容易损害DNA或影响快速生长组织需要的细胞蛋白功能或细胞呼吸。

DNA损害

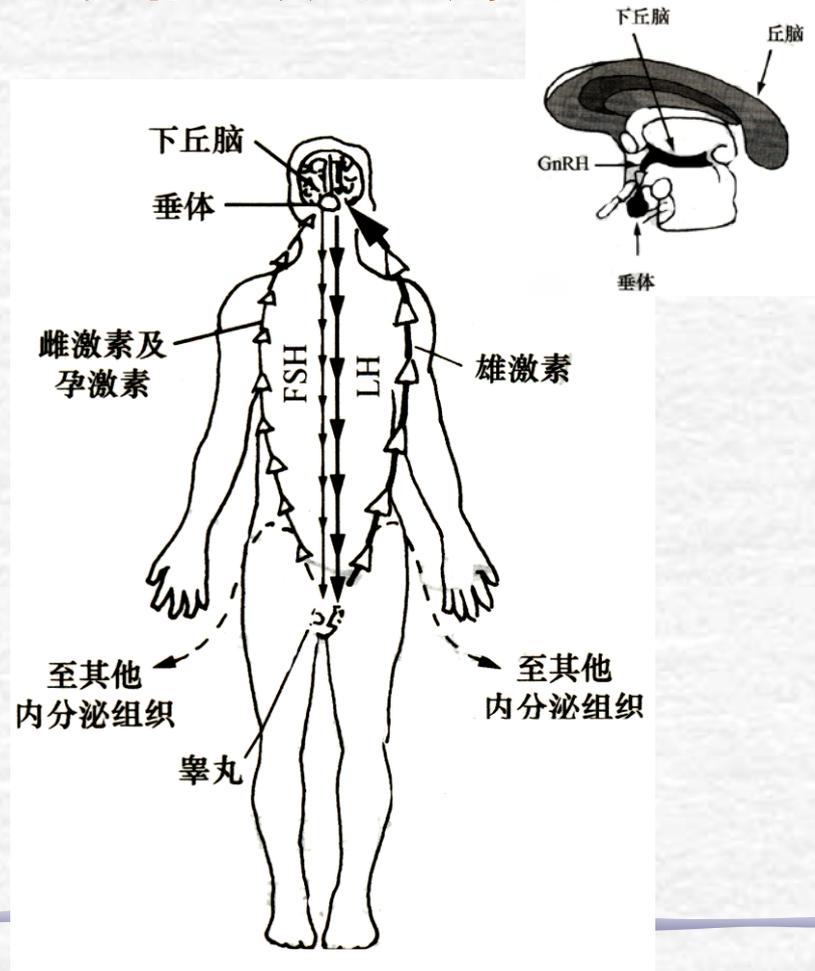
蛋白质损伤

## 二) 下丘脑-垂体-性腺轴激素调节

下丘脑-垂体-性腺轴  
雄激素

黄体生成素 (LH)

促性腺激素释放激素 (GnRH)



# 三、女性生殖毒理学

## 女性生殖毒理学

### 女性生殖系统的功能

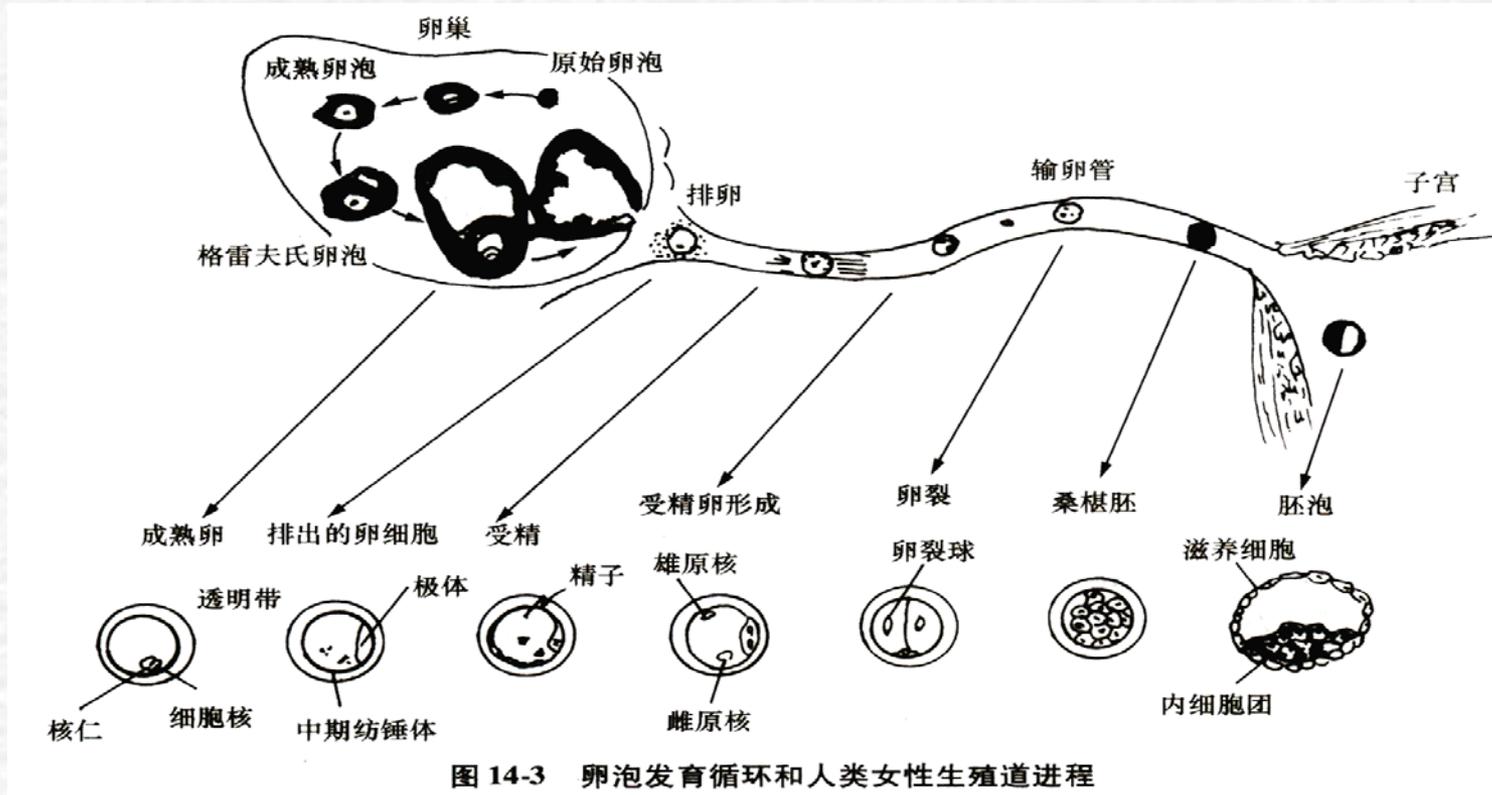


图 14-3 卵泡发育循环和人类女性生殖道进程

## 一) 卵细胞毒性

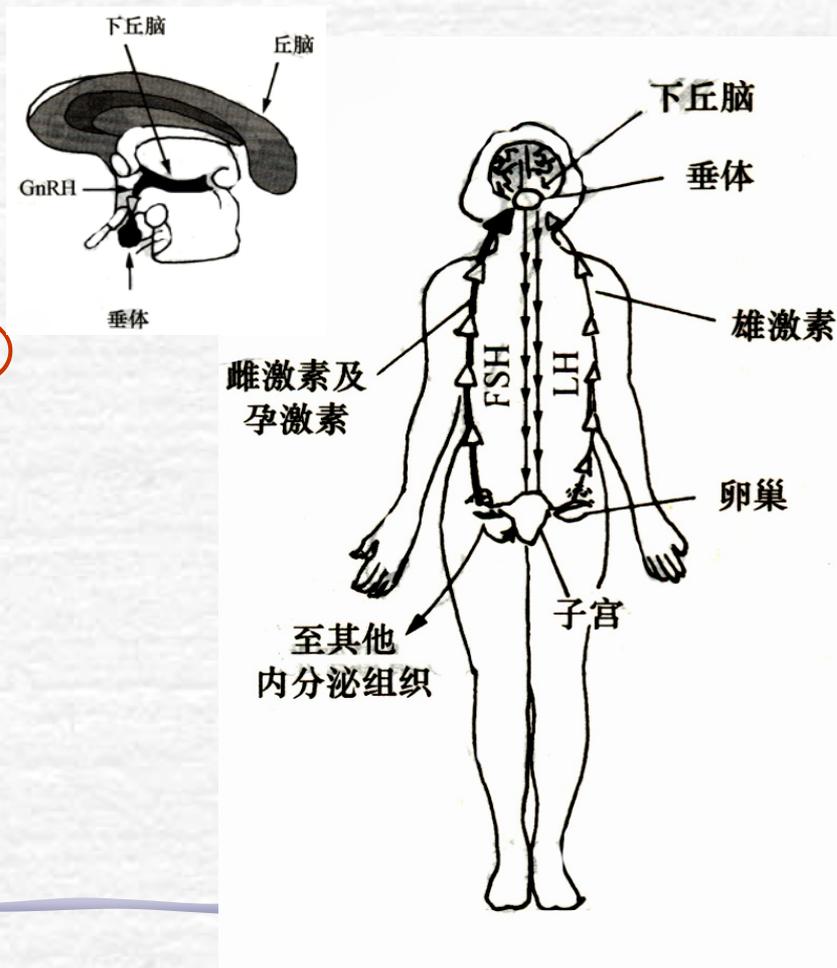
阻滞原始卵母细胞，影响进一步的成熟和排卵。如抗癌药--白消安。

## 二) 卵巢体细胞和生殖道毒性

卵巢体萎缩—环氧树脂、呋喃妥因  
输卵管和子宫萎缩—镉

### 三) 生殖功能激素调节和相关毒性

1. 下丘脑-垂体-性腺轴
2. 促性腺激素释放激 (GnRH)
3. 黄体生成素LH
4. 促卵泡素FSH
5. 雌激素
6. 孕激素



## 四、发育毒理学

发育毒理学关注的是受精后胚胎发育的整个过程。

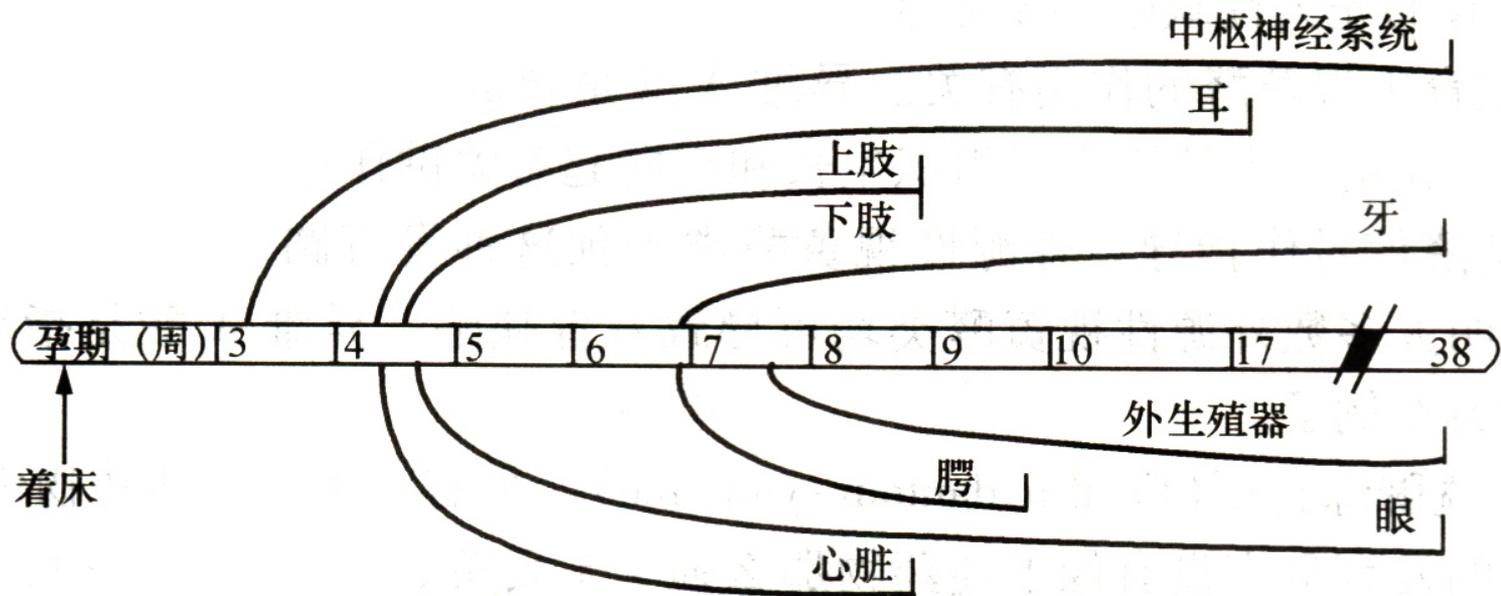


图 14-4 人类妊娠期间表示时间的发育框架

# 发育的三个过程

早胚期

后胚期

胎儿期

一) 自发流产和胚胎丢失

二) 胚胎毒性反应

三) 胎儿发育损害

## 五、毒性试验

### 一) 一般生殖毒性试验

药物对生殖过程第一阶段的影响，主要反映妊娠前及妊娠初期的情况。

实验方法：

- 1、动物
- 2、剂量与给药途径
- 3、给药时间
- 4、对照组
- 5、观察与报告

## 二) 致畸胎试验

生殖过程第二阶段，确定药物是否具有胚胎毒性或致畸性。

实验方法：

- 1、动物
- 2、剂量与给药途径
- 3、给药时间
- 4、对照组
- 5、观察与检查
- 6、报告
- 7、判定

### 三) 围生期毒性试验

生殖过程第三阶段，反映药物对胚胎发育后期、母代分娩过程、哺乳期的影响。

实验方法：

- 1、动物
- 2、剂量与给药途径
- 3、给药时间
- 4、对照组
- 5、观察与报告

# 小结

## 一、常用术语

- 1、胚胎毒性
- 2、致畸性
- 3、致畸剂
- 4、母体毒性
- 5、致畸指数

## 二、男性生殖毒理学

- 1、精子易感性
- 2、下丘脑-垂体-性腺轴激素调节

## 三、女性生殖毒理学

- 1、卵细胞毒性
- 2、卵巢体细胞和生殖毒性
- 3、生殖功能激素调节和相关毒性

## 四、发育毒理学

- 1、自发流产和胚胎丢失
- 2、胚胎毒性反应

## 五、毒性试验

- 1、一般生殖毒性试验
- 2、致畸胎试验
- 3、围生期毒性试验

谢谢!