

纳米药物非临床安全性研究技术指导原则 (试行)

二〇二一年八月

目录

一、概述.....	1
二、基本原则.....	2
三、基本内容.....	2
(一) 试验系统的选择.....	2
(二) 受试物.....	3
(三) 试验设计的基本考虑.....	4
3.1 给药剂量.....	4
3.2 对照组设置.....	4
3.3 检测时间和频率.....	5
3.4 结果分析和风险评估.....	5
(四) 重点关注内容.....	5
4.1 免疫原性和免疫毒性.....	5
4.2 神经系统毒性.....	6
4.3 遗传毒性.....	7
4.4 致癌性.....	8
4.5 生殖毒性.....	8
4.6 制剂安全性.....	9
4.7 毒代动力学.....	9
(五) 不同给药途径的特殊关注点.....	10
四、不同申报类型的要求.....	11
五、参考文献.....	12

一、概述

本指导原则所述纳米药物系指利用纳米制备技术将原料药等制成的具有纳米尺度的颗粒，或以适当载体材料与原料药结合形成的具有纳米尺度的颗粒等，及其最终制成的药物制剂。纳米药物通常分为三类：药物纳米粒、载体类纳米药物和其它类纳米药物。纳米药物的范围、特点及分类信息参见《纳米药物质量控制研究技术指导原则（试行）》。

纳米药物由于其特殊的纳米尺度效应和纳米结构效应等理化特性，具有较为特殊的生物学特性。纳米药物在体内可能通过被动靶向、主动靶向、物理靶向、化学靶向等方式高选择性地分布于特定的器官、组织、细胞、细胞内结构，改变原形药物的药代动力学特征如体内组织分布，并进而影响其安全性和有效性。同样，由于纳米药物的特殊性，适用于普通药物非临床前安全性评价策略并不一定完全适合于纳米药物，除了常规毒理学评价外，还有许多特别关注之处。通过获得较为全面的非临床安全性研究数据，充分考虑和全面评估纳米药物的潜在风险，从而为其临床试验设计和临床合理用药提供信息。

本指导原则适用于药物纳米粒、载体类纳米药物，不适用于其它类纳米药物。

本指导原则的起草基于当前对纳米药物的科学认知，随着纳米药物科学研究的进展和经验积累，相关内容将不断完

善和适时更新。

二、基本原则

药物非临床安全性评价相关指导原则的一般原则适用于纳米药物，同时应基于纳米药物的特性，开展针对性的非临床安全性研究。由于纳米药物情况复杂，本指导原则不可能涵盖各种纳米药物非临床安全性试验的全部内容，其安全性研究应遵循“具体问题具体分析”的原则。试验设计应符合随机、对照、重复的基本原则。

创新纳米药物应进行全面系统的非临床安全性评价研究。应基于纳米药物结构及其功能的表征信息，结合其物理化学性质，对其非临床安全性进行研究。

三、基本内容

（一）试验系统的选择

在纳米药物非临床安全性研究时，为获得科学有效的试验数据，应选择适合的试验系统。选择试验系统时，在充分调研受试物的药效学、药代动力学研究等相关文献资料的基础上，还至少应考虑以下因素：试验系统对纳米药物的药效学反应差异，如敏感性、特异性和重现性；实验动物的种属、品系、性别和年龄等因素。如果选择特殊的试验系统，应说明原因和合理性。

由于纳米药物具有特殊的理化性质，一般情况下，可根据纳米药物的特点先开展体外试验进行早期筛选和安全性

风险预评估，如细胞摄取及相互作用、补体激活情况等研究。

在进行动物体内试验时，若已知特定动物种属对某些纳米药物的毒性更为敏感，应考虑将其用于试验。

随着纳米药物的不断发展，替代的毒性测试方法可能有助于研究纳米药物与生物系统的相互作用。快速发展的成像技术以及多种毒理组学技术（如基因组学、蛋白质组学和代谢组学等）可考虑作为毒性评价的补充研究。

（二）受试物

受试物应能充分代表临床拟用样品。应提供生产过程、关键质量特征、制剂等方面的信息，如稳定性（药物和载体的化学稳定性、物理稳定性）、分散剂/分散方法、纳米特性（粒径、粒径分布、比表面积、表面电荷、表面配体等）、表面性质（包衣及厚度、配体及密度等）、载药量、浓度、溶解性、药物从载体的释放、纳米药物的聚集状态及变化过程、表征的方法和检测标准等。

由于在储存和运输等不同条件下纳米药物活性形式的稳定性以及纳米药物的功能性、完整性、粒径范围、载体材料的稳定性及可能降解产物等可能发生变化，试验前应考虑在不同的时间间隔内使用合适的技术方法对纳米药物的纳米特性（粒径分布、表面性质、药物载量等）和分散稳定性（在介质中溶解、均匀分散或团聚/聚集）进行测定和量化。

纳米药物可能产生团聚或者存在稀释后包裹药物释放

改变等可能性。若纳米药物需稀释和/或配制后给药，应关注纳米药物配制后在不同浓度、溶媒、体外细胞培养液或者其他体外试验体系下的稳定性、均一性和药物释放率等特征是否发生改变。体外试验需要评估受试物是否在体外细胞培养液或者其他体外系统中产生团聚，需要测试满足体外试验浓度和时间条件下纳米药物颗粒大小是否发生改变，评估体外试验进行安全性评价的可行性。

（三）试验设计的基本考虑

纳米药物非临床安全性研究的试验设计除遵循普通药物非临床安全性研究的一般原则外，还应关注以下几个方面：

3.1 给药剂量

纳米药物由于溶解性、稳定性等多方面因素与普通药物有差异，可能会影响到试验中拟给予的最大给药剂量。

在描述纳米药物的剂量反应关系时，除采用传统的质量浓度外，可考虑同时提供质量浓度和纳米颗粒数目/比表面积的剂量单位信息。

3.2 对照组设置

对于包含新药物活性成分的纳米药物，建议设计单独的药物活性成分组，以考察纳米药物与单独的药物活性成分相比在安全性的差异。

对于包含新纳米载体的纳米药物，一般应设计单独的无药纳米载体组，以考察新纳米载体的安全性及其对活性药物

成分的安全性的影响。

3.3 检测时间和频率

部分纳米药物在组织中的清除速度较慢，即使停药一段时间后仍可能存在蓄积，应根据纳米药物在不同组织器官中的蓄积情况合理设置毒性指标的检测时间点和检测频率，必要时可考虑适当延长恢复期的时间和/或设置多个恢复期观察时间点。

3.4 结果分析和风险评估

应重点关注纳米药物及其活性成分和/或载体材料相关的神经系统、生殖系统和呼吸系统毒性、遗传毒性、致癌性、免疫原性、免疫毒性等，对组织靶向性、毒性特征和作用机制进行综合分析和评估。

在免疫功能评估时，应考虑对免疫激活（如补体系统、细胞因子分泌、诱导抗体反应和过敏反应等）或免疫抑制的影响，必要时关注对单核吞噬细胞系统功能的影响。

在对产品或工艺进行变更（如产品或工艺优化）之前，应根据变更的程度及风险，谨慎评估对产品安全性的影响。必要时，需开展非临床对比研究。

（四）重点关注内容

4.1 免疫原性和免疫毒性

纳米药物主要经单核吞噬细胞系统（mononuclear phagocytic system, MPS）的吞噬细胞清除。由于吞噬细胞主

要由聚集在淋巴结和脾脏的单核细胞和巨噬细胞以及肝巨噬细胞（Kupffer 细胞）等组成，因此纳米粒子更容易聚集到肝脏、脾脏和淋巴组织等器官组织。此外，纳米颗粒在体内可能会与体液的不同成分相互作用，在纳米材料表面吸附不同生物分子（以蛋白质分子为主）形成生物分子冠层（如蛋白冠），进而被免疫细胞表面受体识别，容易被免疫细胞捕获吞噬，或者蓄积于单核吞噬细胞系统，产生免疫原性和免疫毒性，还可导致类过敏反应。

在纳米药物的研发和使用过程中，应关注纳米药物由于其特殊性质、靶点情况、拟定适应症、临床拟用人群的免疫状况和既往史、给药途径、剂量、频率等相关因素导致的免疫原性和免疫毒性风险，根据免疫反应的潜在严重程度及其发生的可能性，确定相应的非临床安全性评价策略，采用“具体问题具体分析”原则进行免疫原性和免疫毒性的风险评估，必要时结合追加的免疫毒性研究进行综合评价。应考虑到纳米药物可能存在免疫增强、免疫抑制、补体活化、炎症反应、过敏反应、细胞因子释放等风险，设计特异性的试验进行评估。免疫原性和免疫毒性相关评估方法可参考《药物免疫原性研究技术指导原则》、ICH S8 等指导原则中的相关要求。

4.2 神经系统毒性

纳米药物与普通药物相比更容易透过血脑屏障，在某些情况下可能会增加安全性担忧。一些纳米药物透过血脑

屏障后进入中枢神经系统，产生相应的生物学效应和/或导致神经毒性。因此，对于纳米药物，应关注纳米药物透过血脑屏障的情况（如血脑浓度比值），评估其潜在神经毒性作用。纳米药物的神经毒性研究应根据受试物分布特点，结合一般毒理学、安全药理学试验结果等综合评价神经毒性风险，并根据评估结果决定是否需要开展进一步的补充研究。对于具有潜在神经毒性风险的纳米药物，建议开展体外毒性研究（如，神经细胞活力测定和细胞功能测定）和体内动物试验。体内动物试验主要包括神经系统的安全药理学试验，以及结合重复给药毒性试验开展的神经系统评价，必要时可考虑开展神经行为学试验和使用成像技术追踪纳米药物及载体在神经系统内的迁移、分布和吸收等研究。

某些纳米药物由于其药代特征的改变可能引起外周神经毒性，应根据品种具体情况进行针对性研究。

4.3 遗传毒性

新药物活性成分的纳米药物和新纳米载体/辅料需要开展遗传毒性评价。由于纳米药物对活性成分的载药量、释放行为和细胞摄取程度有影响，也与药代动力学、生物分布和清除途径以及药物递送机制等密切相关，因此，建议根据纳米药物的作用特点，以遗传毒性标准组合试验为基础，设计合适的试验并开展研究。

某些纳米药物细胞摄取程度可能不同于普通药物，因此进行体外遗传毒性试验时应分析其细胞摄取能力。细菌回复突变试验（Ames）可能不适合于检测无法进入细菌内的纳米药物。体外哺乳动物细胞试验建议使用可摄取纳米药物的细胞系，同时应考虑纳米药物在细胞内发挥作用的浓度、时间点进行合适的试验设计，并同时分析细胞摄取能力。进行体内遗传毒性试验时，需通过适当方式研究确定纳米药物在骨髓、血液等取样组织中有暴露且不会被快速清除，否则可能导致假阴性结果。

4.4 致癌性

纳米药物开展致癌试验的必要性以及致癌性试验要求可参考 ICH S1 指导原则。

4.5 生殖毒性

纳米药物可能容易通过胎盘屏障、血睾屏障、血乳屏障等生物屏障，从而对生殖器官、生育力、胚胎-胎仔发育、子代发育产生不良影响。因此，应关注纳米药物的生殖毒性风险。生殖毒性评价的研究策略、试验设计、实施和评价等参考 ICH S5 指导原则，同时应关注纳米药物在生殖器官的分布和蓄积情况。在生育力与早期胚胎发育试验中，如果纳米药物存在蓄积或延迟毒性，可考虑适当延长交配前雄性动物给药时间，除常规精子分析（如精子计数、精子活力、精子形态）外，必要时可增加检测精子功能损伤的其它指标。在

围产期毒性试验中，应注意考察 F1 子代的神经毒性、免疫毒性、免疫原性等毒性反应情况，必要时可开展更多代子代（如 F2、F3 等）的生殖毒性研究。

4.6 制剂安全性

对于注射剂型，在进行体外溶血试验时应关注纳米药物在溶液中是否会存在团聚现象。若发生团聚，因对光线存在折射和散射的效应可能会导致测量结果失真，不宜采用比色法（分光光度计）进行体外溶血试验，推荐采用体内溶血的方法进行试验。

4.7 毒代动力学

纳米药物受其尺度、表面性质和形状等物理化学性质的影响，药物的转运模式发生变化，其体内吸收、分布、代谢、排泄等药代动力学行为均可能发生明显变化，进而引起有效性与安全性方面的改变。部分纳米药物可能在组织中存留的时间较长，组织暴露量高于系统暴露量，尤其毒性剂量下在组织中的存留时间可能会明显比药效剂量下更长，在体内某些组织器官发生蓄积，这种蓄积作用在纳米药物多次给药后，可能产生明显的毒性反应。因此，应通过毒代动力学研究纳米药物在全身和/或局部组织的暴露量、组织分布和清除（必要时）以及潜在的蓄积风险，为纳米药物的毒性特征的阐释提供支持性数据。

对于非临床安全性评价中的毒代动力学研究及体内药

物分析方法的具体技术要求，可参考《纳米药物非临床药代动力学研究指导原则（试行）》和《药物毒代动力学研究技术指导原则》《药物非临床药代动力学研究技术指导原则》中的相应内容。

（五）不同给药途径的特殊关注点

经皮给药：纳米药物可能具有较高的毛囊渗透性或分布至局部淋巴结；不同皮肤状态（如完整、破损、患病）可能影响纳米药物透皮的渗透性；此外，不同于普通药物，纳米药物可能与光照相互作用，从而影响皮肤与光的相互作用。因此，毒性试验中应注意考察不同皮肤状态、不同影响因素下纳米药物在给药局部和全身的暴露量差异以及相应的毒性风险。

皮下给药：与其它给药途径（如皮肤给药）相比，皮下给药后纳米药物进入角质层下，具有更高的致敏潜力，也可能增强对其它过敏原的敏感性。需关注不溶性纳米药物在皮下的蓄积和转移以及相应的毒性风险。

鼻腔给药：鼻腔粘膜穿透性较高且代谢酶相对较少，对纳米药物的分解作用低于胃肠粘膜，有利于药物吸收并进入体循环。纳米药物还可能通过嗅神经通路和粘膜上皮通路等透过血脑屏障进入脑组织。因此，应关注鼻腔给药的系统暴露量升高以及脑内暴露量升高而带来的安全性风险。

吸入给药：由于纳米药物可广泛分布于肺泡表面，并透

过肺泡进入血液循环，因此对于吸入制剂，应关注局部/呼吸毒性。还应关注不溶性载体类纳米药物在肺部的蓄积和转移以及相应的毒性风险。

静脉给药：与普通药物相比，纳米药物静脉给药后其活性成分可能具有不同的组织分布和半衰期，非临床安全性评价时应关注可能的影响；此外，血液相容性可能会发生变化。

口服给药：对于口服药物，制备成纳米药物通常是为了提高药物活性成分的生物利用度。如果口服药物中含有不溶性纳米成分，毒理学试验应考虑到这一点，并包含不溶性纳米成分可能蓄积的组织的评估。

对于其他特殊给药途径的纳米药物，研究时需采取具体问题具体分析的策略。

四、不同申报类型的要求

对于将已经批准上市的药品通过改良制成纳米药物（包括活性成分或非活性成分），应考虑这种变更可能影响药物的吸收、分布、代谢和排泄（ADME）以及可能对毒性产生何种潜在影响。

当不涉及新辅料/载体时，在前期的普通药物的非临床安全性研究资料基础上，通常先开展药物的 ADME 研究以及桥接性毒理学试验，通常包括重复给药毒性试验和/或生物相容性试验（如注射剂的制剂安全性试验）。若改良型纳米药物的体内药代动力学和分布特征发生改变，且其安全性风险发生

变化，则可能需进行更多的研究，如其它相关安全性对比研究以及针对特定器官、特定系统的毒性研究，如细胞摄取试验、生殖毒性试验和安全药理学试验等。在某些情况下，当纳米物质不是活性成分时，评估其对毒性的影响可能有助于解释桥接性试验的研究结果，因此应考虑设置仅包含纳米组分的单独给药组。当涉及新的辅料/载体时，需对新辅料/载体进行全面的的安全性评价。

对于已上市纳米药物的仿制纳米药物，因纳米药物特殊的理化性质，仿制纳米药物与原研纳米药物在生产工艺和质量控制的细微差异都可能影响其制剂的理化性质，并可能通过影响原料药和制剂稳定性以及药物的正常释放，进而影响仿制纳米药物的质量属性及其相关的有效性和安全性。因此，仿制纳米药物的开发应首先关注药学一致性。非口服给药途径（如，经皮肤、粘膜、腔道、血管给药）的仿制纳米药物，在药学一致的基础上，应开展采用非临床药代动力学对比性研究，以及制剂安全性试验，以评估其对用药局部产生的毒性（如刺激性和局部过敏性等）和/或对全身产生的毒性（如全身过敏性和溶血性等）。

五、参考文献

[1] CDER, FDA. Guidance for Industry: Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterials (draft).2017.

[2] MHLW/EMA. Joint MHLW/EMA reflection paper on the development

- of block copolymer micelle medicinal products. 2013.
- [3] CHMP, EMA. Guideline on core SmPC and Package Leaflet for nano-colloidal technetium (^{99m}Tc) albumin. 2016.
- [4] CHMP, EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous iron-based nano-colloidal products developed with reference to an innovator medicinal product. 2015.
- [5] CHMP, EMA. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product. 2013.
- [6] FDA. Guidance for Industry: Considering whether an FDA-regulated product involves the application of nanotechnology. 2014.
- [7] OECD. Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials. No.43. Genotoxicity of manufactured nanomaterials: Report of the OECD expert meeting [EB/OL]. 2014.
- [8] ICH. Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use S2(R). 2011.
- [9] OECD. Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No.63. Physical-chemical parameters: measurements and methods relevant for the regulation of nanomaterials. 2016.
- [10] OECD. Publications in the Series on the Safety of Manufactured Nanomaterials No. 36. Guidance on Sample Preparation and Dosimetry for the Safety Testing of Manufactured Nanomaterials. 2012.